

COMPLEXES LUMINESCENTS DE LANTHANIDES AVEC DES DÉRIVÉS DU CYCLÈNE COMME BRIQUES POUR L'INGÉNIERIE DE SONDES ANALYTIQUES BIOMÉDICALES

THÈSE N° 3075 (2004)

PRÉSENTÉE À LA FACULTÉ SCIENCES DE BASE

Institut des sciences et ingénierie chimiques

SECTION DE CHIMIE ET GÉNIE CHIMIQUE

ÉCOLE POLYTECHNIQUE FÉDÉRALE DE LAUSANNE

POUR L'OBTENTION DU GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES

PAR

Anne-Claire FERRAND

DEA de chimie, Université Claude-Bernard, Lyon I, France
et de nationalité française

acceptée sur proposition du jury:

Prof. J.-C. Bünzli, directeur de thèse

Dr L. Charbonnière, rapporteur

Dr L. Helm, rapporteur

Prof. M. Mazzanti, rapporteur

Lausanne, EPFL
2004

Remerciements

Je tiens à remercier Monsieur le Professeur Jean-Claude Bünzli pour m'avoir intégrée dans son équipe de recherche et confié la suite d'un sujet très passionnant, qui se situe à la pointe de la recherche scientifique, et grâce auquel j'ai découvert et exploité de nombreux aspects de la chimie.

Je remercie également Madame le Docteur Marinella Mazzanti et Monsieur le Docteur Loïc Charbonnière pour avoir accepté d'expertiser ce travail et de faire partie du jury.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance envers Monsieur le Docteur Lothar Helm pour avoir également accepté d'expertiser ce travail et de faire partie du jury, ainsi que le Professeur André E. Merbach pour en avoir accepté la présidence.

Mes sincères remerciements s'adressent à Madame le Docteur Anjum Dadabhoy pour ses conseils et sa grande expérience dans la chimie des macrocycles et la luminescence des lanthanides, ainsi que pour ses précieux encouragements.

Je remercie le Docteur Toralf Peymann pour avoir mis au point la majeure partie de la première synthèse du ligand L^3 .

Je remercie Monsieur le Docteur Daniel Imbert et Frédéric Gumy pour leurs conseils pertinents en luminescence et pour les mesures à haute résolution.

Je remercie les autres membres du groupe, en particulier Monsieur le Docteur Nicolas André, Monsieur le Docteur Stéphane Suárez, Madame le Docteur Olimpia Mamula et Monsieur Erwann Guillet pour leurs discussions scientifiques constructives, leur disponibilité et leurs encouragements.

Je remercie l'ex-Institut de Chimie Minérale et Analytique de l'Université de Lausanne et l'Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne pour les moyens techniques et financiers mis gracieusement à ma disposition.

Enfin, je dédie cet ouvrage à mes parents, mon frère et Johnny pour tout le reste...

Sommaire

Version abrégée.....	7
Summary	9
I. Introduction	11
I.1 Les ions lanthanides et la luminescence	11
<i>I.1.1 Les complexes de lanthanides : aspects thermodynamiques et cinétiques</i>	<i>13</i>
<i>I.1.2 La luminescence des complexes de lanthanides</i>	<i>16</i>
<i>I.1.3 Optimisation du transfert d'énergie</i>	<i>20</i>
<i>I.1.4 Minimisation des désactivations non radiatives.....</i>	<i>25</i>
<i>I.1.5 Transfert d'énergie en retour</i>	<i>26</i>
I.2 Les dérivés du cyclène symétriques et asymétriques	28
<i>I.2.1 dérivés du cyclène symétriques.....</i>	<i>28</i>
<i>I.2.2 dérivés du cyclène asymétriques : fonctionnalisation d'un bras.....</i>	<i>29</i>
I.2.2.1 Acides carboxyliques et phosphiniques	30
I.2.2.2 Amides	32
I.3 Les complexes de lanthanides en tant que sondes luminescentes dans les applications biomédicales	34
<i>I.3.1 Les sondes luminescentes</i>	<i>37</i>
I.3.1.1 Senseurs d'hydrocarbures polyaromatiques ^[88]	37
I.3.1.2 Senseur de pH ^[90]	39
<i>I.3.2 Les analyses fluoroimmunologiques.....</i>	<i>40</i>
I.3.2.1 Les analyses en milieu hétérogène : DELFIA [®] et CyberFluor [®]	41
I.3.2.2 FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) et les analyses en milieu homogène	44
I.3.2.3 Analyses multiplex.....	48
I.4 But du travail	49
Références.....	51

II. Compléments de l'étude photophysique en solution des complexes contenant les ligands L¹ et L².....	57
Références.....	72
III. Synthèse du ligand L³	73
III.1 Synthèse des bras 1 et 2	74
III.2 Synthèse « 1 bras + 3 bras ».....	75
III.3 Synthèse « 3 bras + 1 bras ».....	76
III.4 Synthèse des complexes.....	81
Références.....	82
IV. Propriétés des ligands L¹ et L³ et de leurs complexes	85
IV.1 Thermodynamique en solution	86
<i>IV.1.1 Diagramme de distribution du complexe TbL¹ dans l'eau.....</i>	<i>87</i>
IV.1.1.1 Constantes d'acidité du ligand L ¹	87
IV.1.1.2 Constantes d'acidité, constante de complexation et diagramme de distribution du complexe TbL ¹	91
<i>IV.1.2 Constante de stabilité du complexe EuL¹ à pH 6.5, dans Me₄NCl 0.1 M.....</i>	<i>97</i>
IV.1.2.1 Spectres d'absorption et coefficients d'absorption molaires.....	97
IV.1.2.2 Etude cinétique.....	98
IV.1.2.3 Constante de stabilité	99
<i>IV.1.3 Diagramme de distribution du complexe TbL³ dans l'eau.....</i>	<i>103</i>
IV.1.3.1 Constantes d'acidité du ligand L ³	103
IV.1.3.2 Constantes d'acidité, constante de complexation et diagramme de distribution du complexe TbL ³	105
IV.2 Photophysique.....	112
<i>IV.2.1 Luminescence à haute résolution des complexes EuL³ et TbL³ à l'état solide</i>	<i>112</i>
IV.2.1.1 Caractérisation générale du complexe EuL ³	113
IV.2.1.2 Etude détaillée des sites de coordination.....	117
IV.2.1.3 Temps de vie des complexes EuL ³ et EuL ¹	122
IV.2.1.4 Caractérisation générale du complexe TbL ³	123

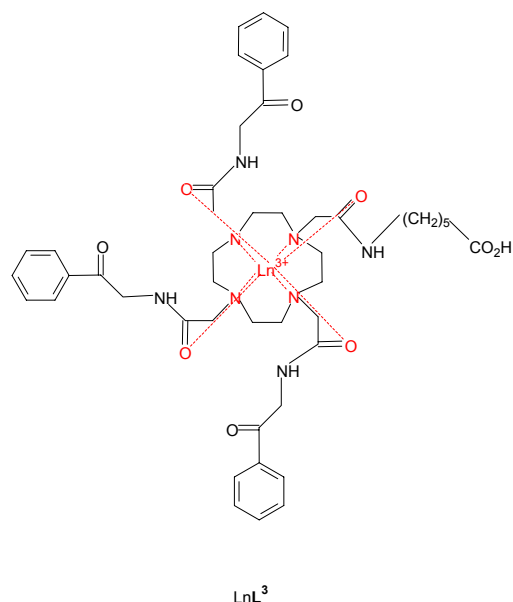
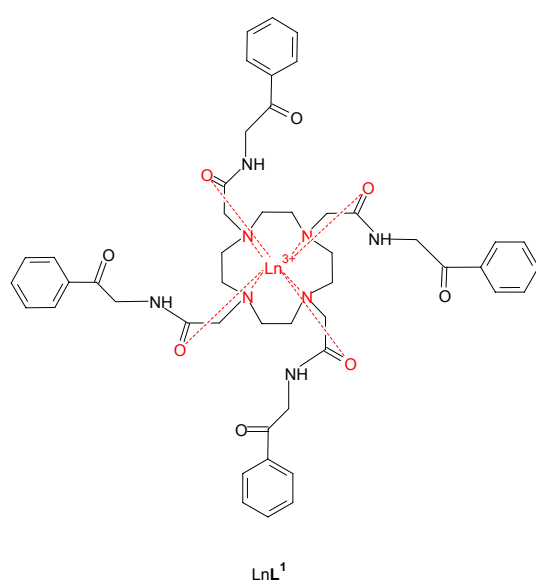
IV.2.2 Caractérisation des complexes en solution.....	126
IV.2.2.1 Détermination des niveaux d'énergie des ligands dans les complexes	127
IV.2.2.2 Temps de vie et nombre d'hydratation.....	133
IV.2.2.3 Rendements quantiques absolus des complexes TbL ¹ , TbL ³ et EuL ³	136
IV.2.2.4 Rendements quantiques des complexes TbL ¹ et TbL ³ en fonction du pH	138
IV.2.3 Transfert d'énergie vers l'accepteur Cy5	142
IV.2.3.1 Etude des systèmes EuL ² – Cy5, EuL ³ – Cy5 et TbL ³ – Cy5.....	142
IV.2.3.2 Influence du pH sur les systèmes EuL ² - Cy5 et EuL ³ - Cy5.....	153
Références.....	156
V Conclusions et perspectives	157
VI Partie expérimentale	161
VI.1 Solvants et réactifs	161
VI.2 Modes opératoires.....	161
VI.2.1 Synthèse.....	161
VI.2.2 Rendements quantiques.....	168
VI.2.3 Etudes thermodynamiques	170
VI.3 Méthodes de caractérisation.....	171
VI.3.1 Résonance magnétique nucléaire (RMN).....	171
VI.3.2 Spectroscopie UV-visible	171
VI.3.3 Infrarouge	171
VI.3.4 Analyses élémentaires	171
VI.3.5 Spectrométrie de masse.....	171
VI.3.6 Luminescence	172
Références.....	173
VII Annexes	175
VII.1 Abréviations	175
VII.2 Mesures des rendements quantiques des complexes TbL ¹ , EuL ¹ , SmL ¹ , DyL ¹ , EuL ² et SmL ² dans l'eau, à différentes longueurs d'onde d'excitation et par rapport à différentes références.	177

VII.3 Spectres d'absorption et d'émission des systèmes $\text{EuL}^2 - \text{Cy5}$ et $\text{EuL}^3 - \text{Cy5}$ en fonction du pH	184
VIII Curriculum Vitae	188

Version abrégée

Ce travail a consisté en l'ingénierie d'un nouveau complexe de lanthanide luminescent, capable de se greffer spécifiquement sur du matériel biologique, et d'émettre une lumière caractéristique afin de définir la concentration en molécules ciblées. Pour cela, nous nous sommes basés sur le complexe TbL^1 , dont le rendement quantique dans l'eau est significatif d'un transfert d'énergie intramoléculaire efficace.

Nous avons ainsi élaboré la synthèse d'un ligand, nommé L^3 , dérivé de L^1 , en fonctionnalisant un des groupes chromophores en une fonction servant à greffer l'édifice sur du matériel biologique. La synthèse des complexes a ensuite été réalisée.



L'étude thermodynamique en solution des ligands L^1 et L^3 , et de leurs complexes de terbium a permis d'élaborer leurs diagrammes de distribution et de comparer leur comportement, notamment à pH neutre. De plus, le complexe EuL^1 a aussi été étudié et les constantes de formation des complexes TbL^1 , EuL^1 et TbL^3 dans l'eau démontrent que ces molécules sont thermodynamiquement stables en milieu aqueux.

La caractérisation du complexe EuL^3 à l'état solide par luminescence à haute résolution a permis de déterminer la géométrie de la sphère de coordination de l'ion Eu(III) , qui est de

type C₄ distordue, proche de celle du complexe EuL¹. L'étude détaillée des transitions de l'ion Eu(III) a mis en évidence l'existence de deux sites différents, provenant probablement de l'équilibre causé par la compétition entre une molécule d'eau et la fonction carboxylate du bras fonctionnalisé. Ce phénomène est à nouveau mis en évidence lors de la détermination des temps de vie des ions Tb(III) et Eu(III) et du nombre d'hydratation du complexe en solution aqueuse.

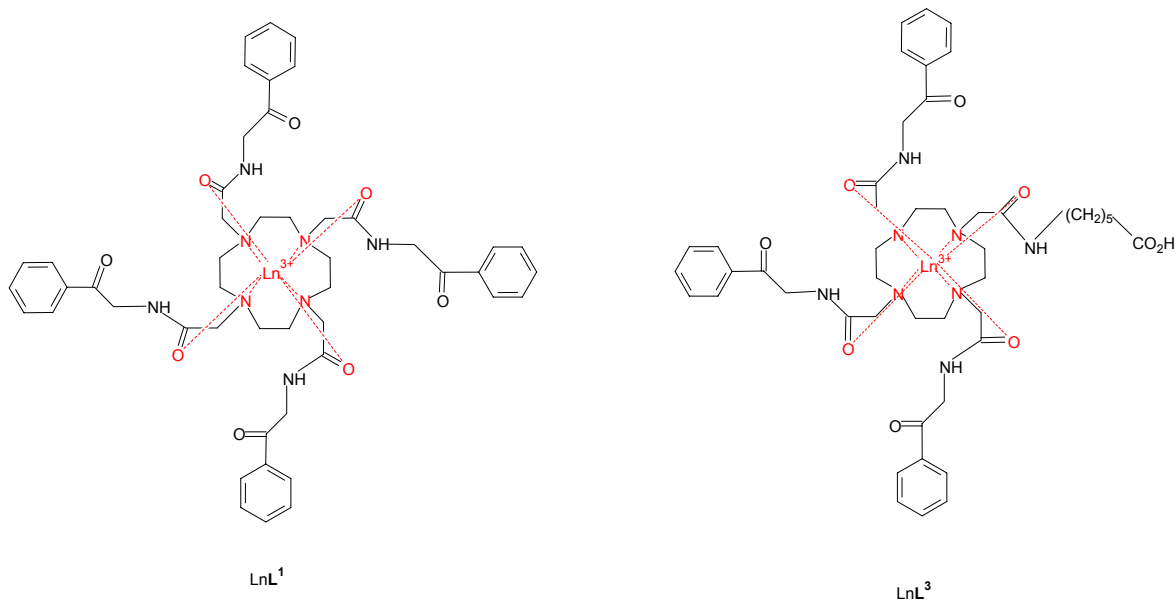
La détermination en solution des énergies des états singulet et triplet du ligand et des niveaux émetteurs des ions Ln(III) dans les complexes a mis en évidence que leurs valeurs relatives sont propices à un bon transfert d'énergie intramoléculaire. De plus, l'état singulet du ligand n'est observable qu'à basse température. Les rendements quantiques des complexes TbL³ et EuL³, de valeurs respectives 2.6 % et 1.4 %, sont plus faibles que ceux des complexes avec le ligand L¹, dénotant que la présence de la fonction acide augmente les pertes dans le transfert d'énergie ; ils restent néanmoins appréciables pour des applications biomédicales.

L'étude du transfert d'énergie intermoléculaire des complexes EuL¹, EuL³ et TbL³ vers l'accepteur Cy5 s'est avérée très positive, puisque les rendements sont de 90% pour le complexe EuL¹ et de 80 % pour les complexes du ligand L³.

Summary

This work deals with the engineering of a new luminescent complex of lanthanide, able to be specifically grafted onto biological materials and to emit a characteristic light useful in quantifying the concentration of the target molecules. We have based our molecular design on TbL^1 , which possesses a significant quantum yield in water pointing to an efficient intramolecular energy transfer.

We have elaborated the synthesis of a ligand derived from L^1 and named L^3 , by functionalizing one of the chromophoric groups into a moiety able to couple the luminescent sensor to biological materials. The synthesis of the complexes was then realized.



The thermodynamic study of the ligands L^1 and L^3 , and their terbium complexes in water was made to establish the distribution diagrams and to compare their behaviour, especially at neutral pH. In addition, EuL^1 was also investigated and the complexation constants of TbL^1 , EuL^1 and TbL^3 in water showed that these molecules are thermodynamically stable in aqueous media.

Characterization of EuL^3 in the solid state by high resolution luminescence allowed us to determine the geometry of the coordination sphere of the Eu(III) ion, which possesses a distorted C_4 symmetry. The detailed study of the Eu(III) ion transitions evidenced two different sites, possibly arising from an equilibrium induced by the competition between a water molecule and the carboxylate function. This interpretation is in line with the measured lifetimes of the Tb(III) and Eu(III) excited states and the calculation of the hydration number of the complexes in aqueous solution.

The determination of the energy of the singlet state and triplet states of the ligand, as well as of the emitting levels of the Ln(III) ions in solution showed that their relative values are favorable for a good intramolecular energy transfer. The quantum yields of TbL^3 and EuL^3 , which amount to 2.6 % and 1.4 %, respectively, are lower than those of the complexes with L^1 , denoting that the presence of the acid function increases losses in the energy transfer. However, these values remain sizeable enough for potential biomedical applications.

The study of the intermolecular energy transfer from EuL^1 , EuL^3 and TbL^3 to the acceptor Cy5 has proved promising, and the resulting yields were 90 % for EuL^1 and 80 % for the complexes with L^3 .

I. Introduction

I.1 Les ions lanthanides et la luminescence

Les éléments 4f du tableau périodique compris entre le lanthane ($Z = 57$) et le lutécium ($Z = 71$) définissent la série des lanthanides, et, lorsque celle-ci est complétée par le scandium ($Z = 21$) et l'yttrium ($Z = 39$), on appelle cette série les Terres Rares.

Les lanthanides forment en solution aqueuse essentiellement des cations trivalents, notés Ln(III), et leur structure électronique est $[\text{Xe}]4f^n$. Les électrons de valence de la sous-couche 4f sont protégés des interactions externes par les électrons des sous-couches 5s et 5p, ce qui leur confère la propriété chimique de se comporter comme des acides durs, se liant de préférence aux atomes d'oxygène et d'azote, par des interactions électrostatiques. D'autre part, la disposition privilégiée des électrons 4f a pour conséquence sur la luminescence des ions lanthanides que les règles de sélection de mécanique quantique interdisant les transitions f-f sont très faiblement relaxées (par le couplage spin-orbite et l'effet du champ des ligands) et qu'elles apparaissent comme des bandes fines de faible intensité. Ceci représente l'avantage que chaque ion Ln(III) a des bandes d'émission qui lui sont propres, et ils sont ainsi aisément reconnaissables par spectroscopie.

Certains ions lanthanides émettent dans le visible : Eu(III) dans le rouge, Eu(II) dans le bleu, Tb(III) dans le vert, Sm(III) dans l'orange, et Dy(III) dans le jaune. D'autres émettent dans le proche infra-rouge : Nd(III), Er(III) et Yb(III). Leur intensité d'émission est, de manière qualitative, inversement proportionnelle à la différence d'énergie entre le niveau excité de l'ion Ln(III) le plus bas et son état fondamental (figure 1.1). En effet, plus la différence entre ces deux niveaux est faible, plus l'état excité subit des désactivations non radiatives provenant des niveaux vibrationnels, qui sont nombreux dans les complexes organiques. Les ions les plus intéressants pour des applications seraient donc les ions Eu(III) et Tb(III) avec des différences d'énergie entre leurs niveaux excité le plus bas et fondamental, respectivement, de 12150 cm^{-1} , et 14800 cm^{-1} , l'ion Gd(III) émettant dans l'UV.

I. Introduction

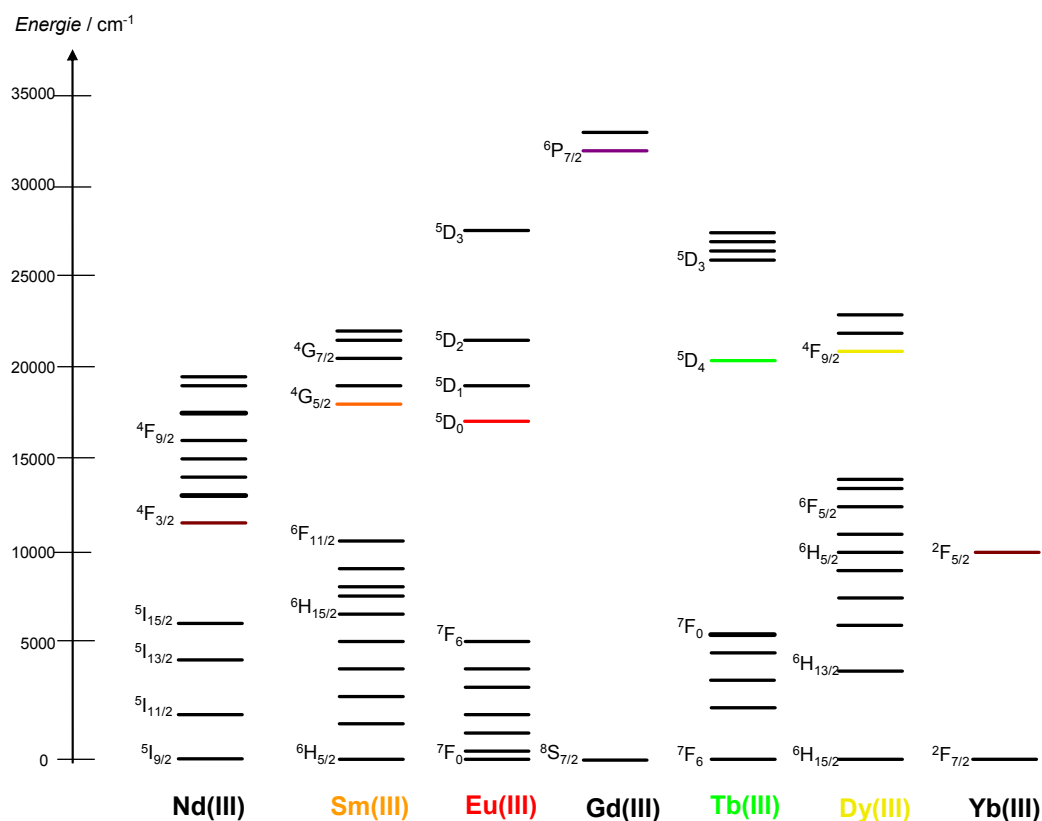


Figure 1.1 : Diagrammes d'énergie partiels d'ions Ln(III).
Les niveaux émetteurs sont colorés.

L'ion Eu(III) présente une particularité spectroscopique qui en fait l'élément le plus intéressant pour l'analyse structurale de complexes d'euporium luminescents. L'analyse détaillée de la transition $^5D_0 \leftarrow ^7F_0$ fournit des informations sur la coordination de l'ion Eu(III), tels que leur nombre d'environnements chimiques et de coordination ;^[1, 2] il a ainsi été montré que l'énergie de la transition $^5D_0 \leftarrow ^7F_0$ est en corrélation avec l'effet néphélauxétique induit par le ligand.^[3] En effet, après complexation, cette transition ne se situe plus à la même énergie que dans l'ion libre. La variation de la différence d'énergie observée est fonction de la nature des atomes coordinants du ligand et de l'environnement qu'il crée autour de l'ion Eu(III), c'est-à-dire que la complexation a pour conséquence une déformation du nuage électronique situé autour de l'ion métallique. Pour un environnement donné, défini par la coordination imposée par le ligand, la transition $^5D_0 \leftarrow ^7F_0$ se situe à une énergie précise, ainsi, la présence de plusieurs maxima sur le spectre d'excitation de cette transition sera la preuve de l'existence de plusieurs sites, ou

environnements chimiques pour l'ion Eu(III). D'autre part, la transition $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$ est « doublement interdite » puisqu'elle met en jeu un réarrangement d'électrons au sein d'une même sous-couche et qu'elle s'effectue entre des états ayant une valeur de J nulle (règle de Laporte), elle doit donc être très peu intense. Une intensité relativement importante sera une indication de la relaxation des règles de sélection par mélange de fonctions d'onde. Le cas échéant, cela signifiera que l'ion Eu(III) se trouve dans un environnement de basse symétrie, en particulier ce sera la preuve de l'absence d'un centre de symétrie. Le nombre de composantes de chaque transition $^5D_0 \leftarrow ^7F_J$, ainsi que leur intensité relative, permettent de déterminer précisément la symétrie du site dans lequel l'ion se trouve. Nous donnerons un exemple d'analyse de la première sphère de coordination de l'ion Eu(III) lors de l'étude de luminescence à haute résolution de deux complexes (IV.2.1 *Luminescence haute résolution des complexes EuL^3 et TbL^3 à l'état solide*).

De par le principe d'exclusion de Pauli et la première règle de Hund,^[4] le remplissage des orbitales 4f laisse toujours un ou plusieurs électrons célibataires. Ainsi, les ions lanthanides sont tous paramagnétiques, à l'exception des ions La(III) et Lu(III) dont les couches 4f sont respectivement vides et totalement remplies. L'ion Gd(III) possède le plus grand nombre d'électrons célibataires ($S = 7/2$). Cette propriété est intensivement utilisée pour l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM),^[5-7] l'ion Gd(III) étant incorporé dans les édifices servant en tant qu'agents de contraste.

I.1.1 Les complexes de lanthanides : aspects thermodynamiques et cinétiques

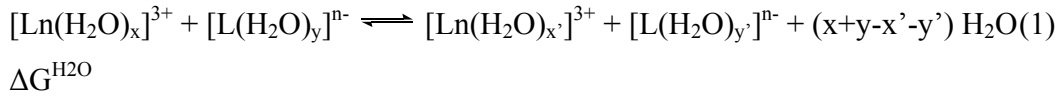
Alors que le numéro atomique augmente, le rayon ionique des ions lanthanides décroît le long de la série, dû à l'accroissement de la charge nucléaire effective, exerçant une attraction électrostatique de plus en plus grande sur les électrons 4f. Les rayons ioniques dépendent du nombre de coordination du métal ; ainsi, chaque ion lanthanide peut s'adapter à plusieurs types de coordination. En effet, la différence de rayon ionique entre les nombres de coordination 6 et 12 est de 0.3 Å alors qu'il est de 0.16 Å entre les ions La

I. Introduction

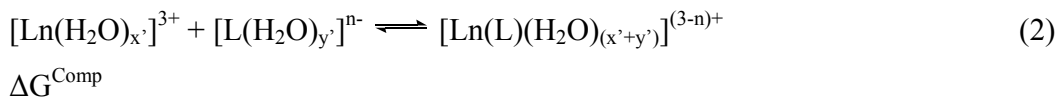
et Lu pour un même nombre de coordination.^[8] De plus, les ions lanthanides trivalents sont labiles, une rigidité dans la conformation du récepteur est donc essentielle au contrôle de leur sphère de coordination.

D'un point de vue thermodynamique, en solution aqueuse, les variations d'enthalpie et d'entropie causées par la complexation sont habituellement influencées par les variations du nombre de molécules d'eau présentes initialement dans la sphère de coordination des cations et dans les ligands plutôt que par l'interaction cation-ligand elle-même. La complexation provoque toujours une perte de molécules d'eau des ions et des ligands, causant ainsi une variation d'entropie positive, traduisant une augmentation du nombre de degré de liberté au sein du système. Dans le cas de ligands multidentés, ceci se traduit par un effet chélate dont l'importance grandit avec la pré-organisation du ligand. Pour les ligands macrocycliques, on parle *d'effet de macrocycle*.^[9] La complexation globale entre un ion Ln^{3+} et un ligand chargé n fois négativement, L^{n-} , est décrite par les équations (1) et (2), basées sur le modèle électrostatique :

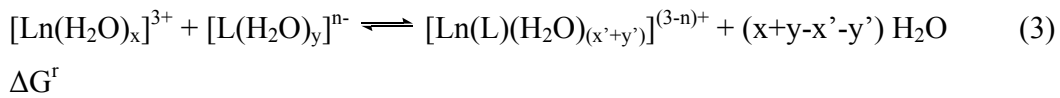
(i) Perte de molécules d'eau :



(ii) Complexation :



La variation globale de l'énergie libre de Gibbs pour la réaction est donc :



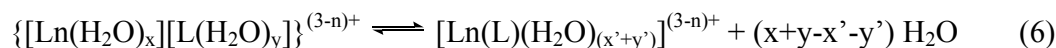
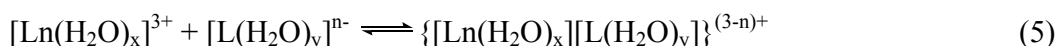
D'où l'expression, à pression et température constantes :

$$\Delta G^r = \Delta G^{\text{H}_2\text{O}} + \Delta G^{\text{Comp}} = \Delta H^r - T \times \Delta S^r$$
$$\Delta G^r = \Delta H^{\text{H}_2\text{O}} + \Delta H^{\text{Comp}} - T \times (\Delta S^{\text{H}_2\text{O}} + \Delta S^{\text{Comp}}) \quad (4)$$

Généralement, $\Delta H^{\text{H}_2\text{O}} \approx -T \Delta S^{\text{H}_2\text{O}}$ donc, $\Delta G^{\text{H}_2\text{O}} \approx 0$.

ΔS^\ddagger est positive (en particulier pour les ligands macrocycliques), ΔH^\ddagger l'est donc également souvent. Les réactions de complexation en solution aqueuse sont influencées par l'entropie, et de plus, une relation linéaire entre ΔH^\ddagger et ΔS^\ddagger s'applique à la série des ions Ln(III). Ces considérations ne sont pas valables pour un solvant autre que l'eau.

Les complexes de Ln(III) sont très labiles, avec des vitesses d'échange de l'ordre de 10^7 s^{-1} à 10^9 s^{-1} . Les réactions de complexation avec des ligands simples et acycliques sont également très rapides. De manière générale, les mécanismes des réactions sont du type Eigen-Tamm :



Elles débutent par la formation d'un complexe de sphère externe qui, très rapidement, forme un complexe de sphère interne. La première étape (5) est contrôlée par la diffusion, et la plus rapide est celle de complexation (6). La vitesse de formation d'un complexe avec des ligands simples, comme SO_4^{2-} , est aussi rapide que celle d'échange de molécules d'eau, que nous venons de voir.^[10] Concernant la vitesse de formation de complexes avec des ligands macrocycliques, la réaction limitante est en général celle de coordination avec le cycle, et la vitesse de complexation est ainsi ralentie. A titre comparatif, la constante de vitesse de formation de pseudo-premier ordre du complexe de lutécium avec le ligand polyaminocarboxylate dtpa (acide diéthylènetriaminepentaacétique) est de 4.6 min^{-1} à pH 7.8 et à 298 K. Alors que celle du complexe de lutécium avec le ligand macrocyclique dota (1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-acide acétique) est seulement de $6.3 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$, ce qui représente une valeur 1000 fois plus faible qu'avec le ligand dtpa. Dans ces conditions, il faut plusieurs jours au système avant d'atteindre son équilibre thermodynamique. Ce comportement est mis en pratique dans la partie IV.1 *Thermodynamique en solution des complexes avec les ligands L^1 et L^3* .

I.1.2 La luminescence des complexes de lanthanides

Depuis les premières études sur la luminescence des lanthanides au 19^{ème} siècle, les progrès ont été considérables, particulièrement durant ces cinquante dernières années. En effet, la compréhension du transfert d'énergie dans les complexes et en solution a été très approfondie et l'étude des propriétés qui en découlent est devenue systématique. L'application de tels composés est étendue : agents d'extraction de solvants, sondes luminescentes pour les dosages fluoroimmunologiques,^[11] auxquels s'ajoutent les agents de déplacement chimique en spectroscopie RMN.^[12] La recherche de nouveaux domaines d'application devrait améliorer encore les connaissances liées à la luminescence.

Weissman est le premier à publier des travaux relatant un transfert d'énergie dans des complexes de lanthanides.^[13] Il s'appuie sur divers complexes 1:3 d'euporium, notamment sur trois dont les ligands sont des β -dicétones. Il parle de *transfert d'énergie intramoléculaire*, et remarque que les propriétés de luminescence des complexes sont dépendantes de la nature du composé, de la température et du solvant, à savoir :

- plus la liaison ligand-métal est ionique, moins la luminescence du complexe est intense.
- l'intensité des bandes caractéristiques en luminescence augmente quand la température diminue, que ce soit en solution ou à l'état solide.
- elle augmente en solution quand on passe d'un solvant de la famille des alcools au toluène.

Dès lors, de nombreuses études sur la luminescence des composés 1:3 de lanthanides et de β -dicétones sont effectuées, non seulement sur des complexes 1:3 mais aussi 1:4. Les ligands les plus courants sont entre autre l'acétylacétone, la trifluoroacétylacétone, l'hexafluoroacétylacétone, le dipivaloylméthane, la benzoylacétone, la benzoyltrifluoroacétone, la thénoyltrifluoro-acétone et le dibenzoylméthane (figure 1.2).

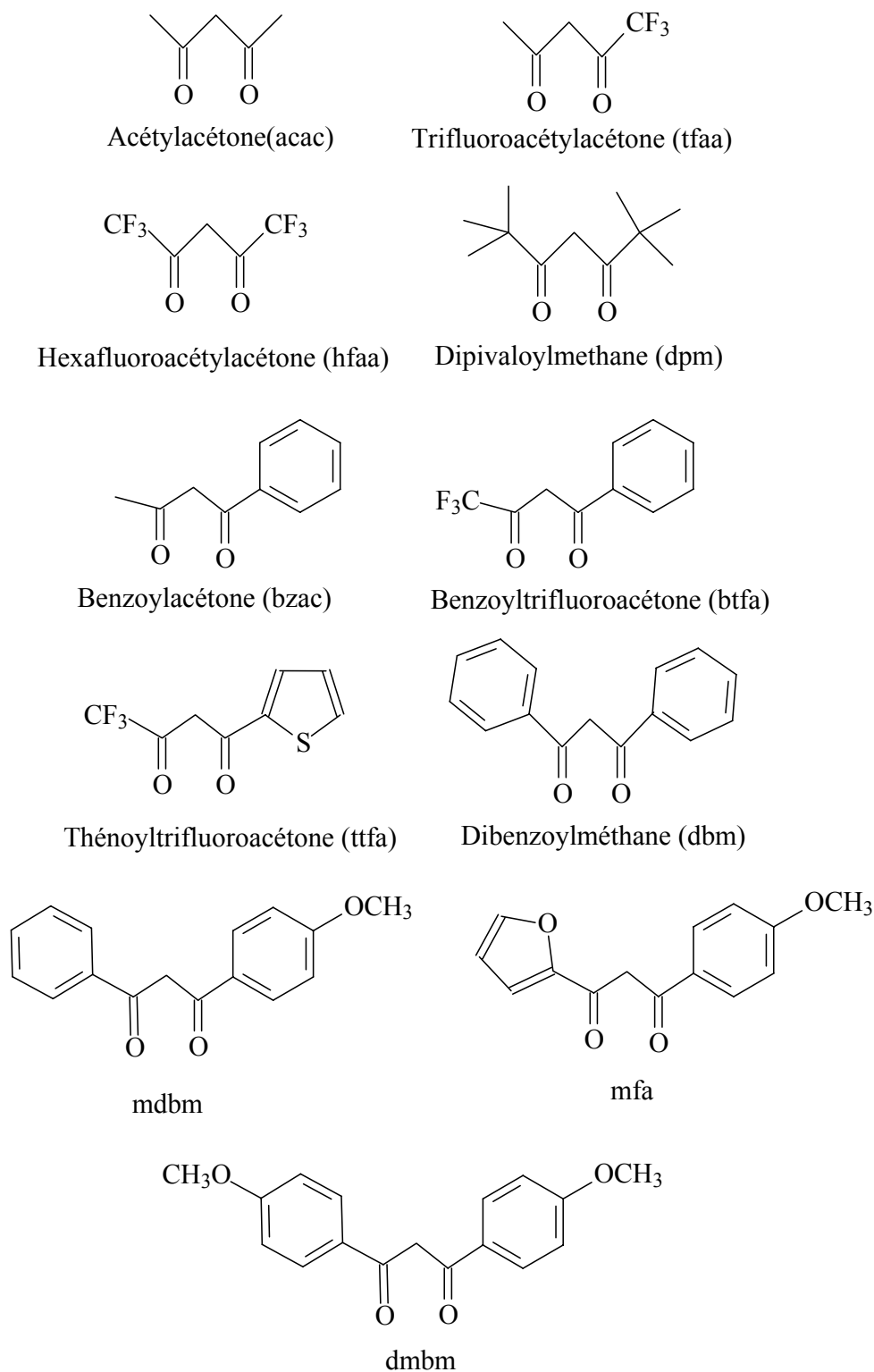


Figure 1.2 : Structures pour la nomenclature associée aux ligands β -dicétones cités.

I. Introduction

Le mécanisme intramoléculaire dans les complexes permet à l'énergie captée par le ligand d'être transmise sur l'ion lanthanide coordonné au centre du complexe et ainsi d'augmenter la luminescence de l'ion. Ce mécanisme, qui par la suite s'appliquera à la majorité des complexes luminescents, est décrit comme suit (figure 1.3). Un des électrons du ligand est excité par une source lumineuse et atteint un état singulet dont l'énergie est élevée (environ $30\,000\text{ cm}^{-1}$ pour le complexe $\text{Eu}(\text{bzac})_3\text{bipy}^{[14]}$). Ensuite, cet électron se désexcite légèrement et, comme il change de spin, passe par un état triplet (environ $21\,000\text{ cm}^{-1}$ pour le complexe $\text{Ln}(\text{bzac})_3^{[15]}$). L'énergie de cet électron est ensuite transférée sur un des niveaux accepteurs de l'ion lanthanide, puis elle est émise sous forme de lumière au cours de la transition entre le niveau excité de l'ion lanthanide et son état fondamental. Il en résulte, lorsque le transfert est efficace, une forte luminescence du complexe.

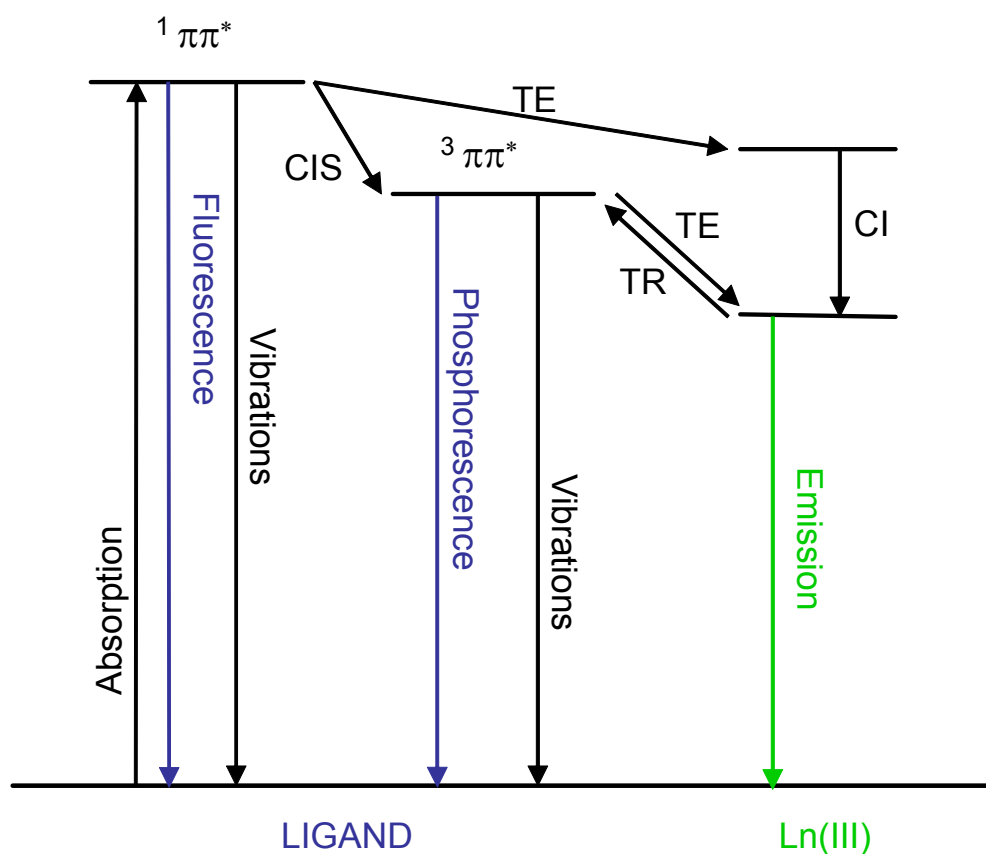


Figure 1.3 : Diagramme de Jablonsky des processus de transfert d'énergie dans un complexe de lanthanide. $^1\pi\pi^*$: état singulet ; $^3\pi\pi^*$: état triplet ; TE : transfert d'énergie ; CIS : conversion intersystème ; TR : transfert en retour ; CI : conversion interne.

Deux types de mécanismes sont possibles pour expliquer le transfert d'énergie de l'état triplet vers l'ion Ln(III). L'un est appelé mécanisme de type Dexter, ou mécanisme d'échange, et consiste en un double transfert électronique (figure 1.4). Après excitation de l'état singulet du ligand et conversion intersystème vers son état triplet, un électron est transféré sur un des états excités de l'ion Ln(III), tandis qu'un autre électron est déplacé du niveau occupé de plus haute énergie de l'ion Ln(III) vers le ligand, remplaçant l'électron initialement situé à l'état fondamental.^[16] Ce type de transfert dépend de la distance entre le ligand et le métal, ce qui nécessite un bon recouvrement orbitalaire entre les deux entités. Ce cas est peu probable pour les complexes de lanthanides, à cause de la disposition particulière des orbitales 4f.

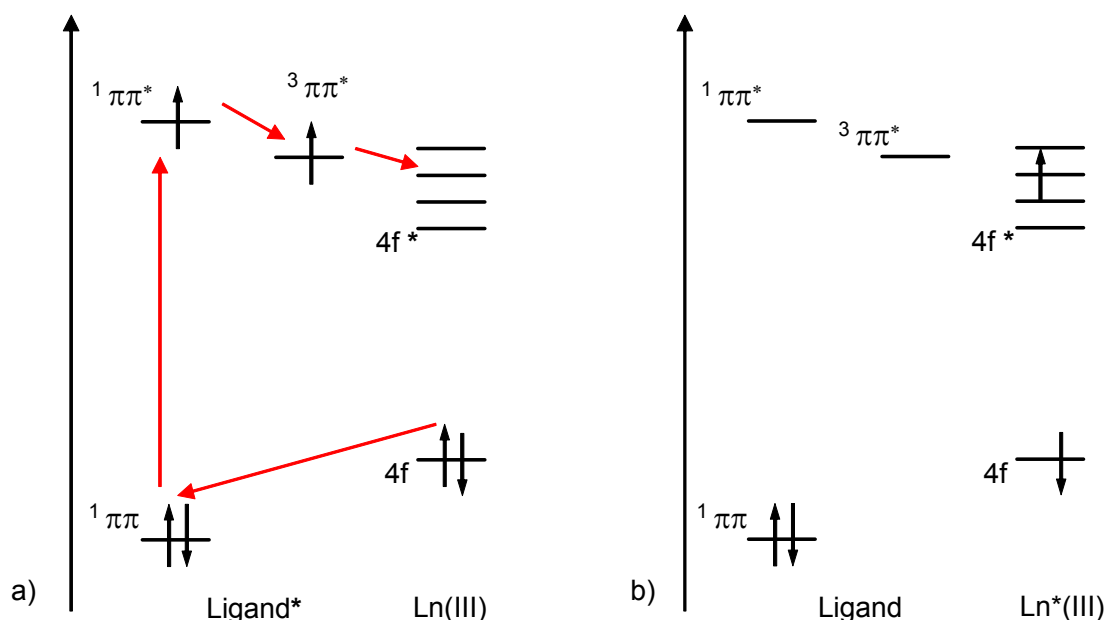


Figure 1.4 : mécanisme de transfert de type Dexter.

a) avant, b) après désexcitation du ligand.

L'autre mécanisme est appelé de type Förster et s'applique la plupart du temps aux complexes de lanthanides, puisque de type dipôle-dipôle (figure 1.5). Après excitation de l'état singulet du ligand et conversion intersystème vers son état triplet, ce dernier se désexcite vers l'état fondamental et le moment dipolaire associé se couple avec le moment dipolaire des orbitales 4f de l'ion Ln(III) et l'énergie est ainsi transmise du donneur à l'accepteur. Le rendement du transfert d'énergie est proportionnel au

I. Introduction

recouvrement des intégrales J entre le spectre d'émission du donneur et le spectre d'absorption de l'accepteur, et dépend de la distance ligand-métal, $(r_{DA})^{-6}$.^[17]

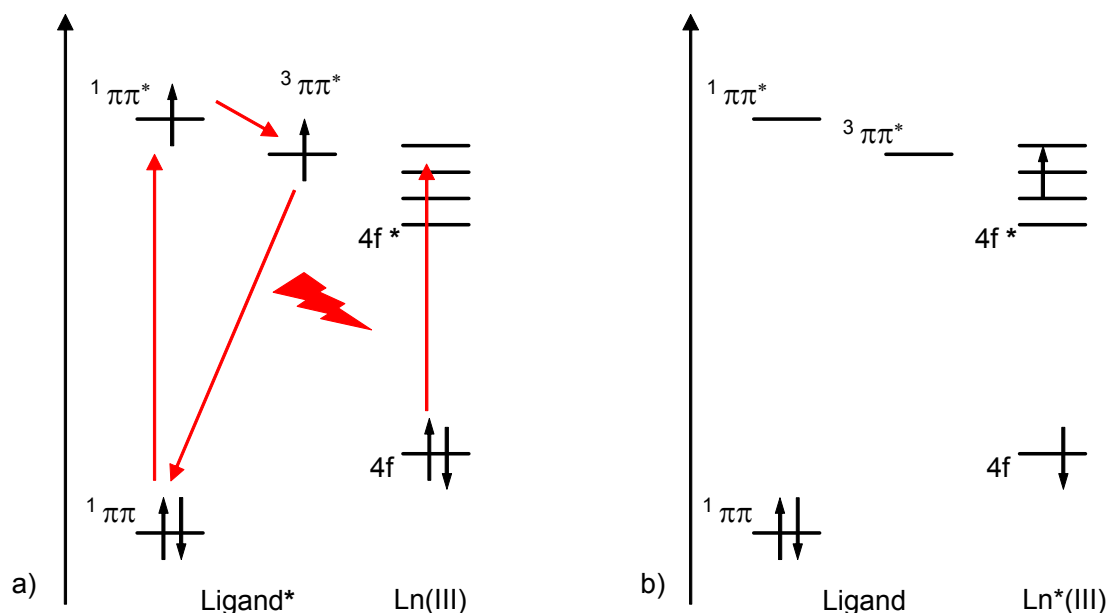


Figure 1.5 : mécanisme de transfert de type Förster.
a) avant, b) après désexcitation du ligand.

I.1.3 Optimisation du transfert d'énergie

Nous illustrons cette optimisation à partir des complexes de β -dicétones, particulièrement bien étudiés dans la littérature.

En règle générale, la conversion intersystème (CIS) et le transfert énergétique entre l'état triplet du ligand et le niveau accepteur du métal sont les deux processus qui doivent être optimisés. Il n'existe pas de modèle empirique les régissant, et chaque type de composé doit être traité de manière particulière.

Les niveaux d'énergie des ions lanthanide sont déterminés à partir des années 1950, ceux des triplets des ligands, en partie cités ci-dessus, dans les années 1960.^[15] La différence d'énergie entre le triplet du ligand et l'ion lanthanide est un facteur jouant un rôle important dans le transfert d'énergie. A cette époque, elle n'est pas encore quantifiée,

mais on sait que pour que le transfert d'énergie soit bon, il faut que le triplet se situe à une énergie supérieure ou égale au niveau accepteur de l'ion lanthanide.^[15, 18]

On observe que la combinaison de substituants aromatiques et aliphatiques sur la β -dicétone augmente le transfert d'énergie entre le ligand et l'ion dû à l'abaissement du triplet vers le niveau accepteur de l'ion. Il en est de même si l'on remplace les atomes d'hydrogène de la β -dicétone par des atomes de fluor^[19], mais aussi si l'on est en présence de groupes CH_3O sur la dibenzoylméthide.^[18] De plus, la lecture approfondie des spectres de luminescence indique que le nombre et la forme des pics caractéristiques des transitions du lanthanide permettent de savoir si tous les atomes coordonnant l'ion central sont équivalents ou non et, d'une manière globale, de déterminer la symétrie de site autour du métal.^[20, 21]

L'association d'un complexe 1:3 avec un ligand du type 1,10-phénanthroline augmente considérablement la luminescence des complexes.^[19] On dit que la molécule neutre a un bon *effet d'antenne*. Elle se lie au métal grâce à l'atome d'azote du cycle qui crée une liaison dative en donnant son doublet libre. De même, les ions alcalins et ceux du type pyridinium et pipéridine utilisés avec les complexes 1:4 chargés négativement améliorent l'intensité des bandes caractéristiques en luminescence.^[19]

Les interactions des complexes en solution avec le solvant influencent considérablement la luminescence. En effet, la forme et l'intensité des bandes caractéristiques des complexes sur les spectres d'absorption UV varient selon la nature du ligand, le nombre de coordination de l'ion lanthanide et la nature du solvant. Une étude à ce sujet a été réalisée sur les complexes tris de néodyme, holmium et erbium coordonnant le dipivaloylméthane, la trifluoroacétylacétone, l'hexafluoroacétylacétone, le dibenzoylméthane ainsi qu'une ou deux molécules d'eau, de DMSO ou de triméthylamine. Les solvants utilisés sont l'éther de pétrole, le benzène, la DMSO et l'éthanol.^[22]

Les études en luminescence sont ensuite portées sur la détermination des temps de vie et de peuplement des niveaux excités de l'ion lanthanide.^[23-25] Ces derniers ont été estimés entre 100 et 900 μs pour les temps de vie et entre 0.4 et 3 μs pour les temps de peuplement de l'état excité $^5\text{D}_0$ de l'ion Eu^{3+} dans les complexes de lanthanide et de β -dicétones (transitions $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ et $^5\text{D}_1 \rightarrow ^7\text{F}_1$).^[23] Là encore, ces temps sont dépendants

I. Introduction

de la température et du solvant. En effet, à température ambiante, les interactions vibrationnelles entre les C=O et l'ion lanthanide augmentent les pertes d'énergie par dissipation non radiative alors qu'à très basse température (77 K), comme la molécule est quasi-fixée, ces pertes sont fortement inhibées. De plus, les interactions entre les complexes et le solvant utilisé sont dépendantes de la nature du solvant et de la température. On observe également qu'à l'état solide, les interactions des complexes avec l'environnement sont diminuées, ce qui fait que la luminescence est plus intense, celle-ci étant toujours égale ou meilleure à basse température.

Au début des années 1970, il est observé que l'intensité des pics sur les spectres d'émission des complexes, donc l'efficacité du transfert d'énergie, est dépendante de la différence d'énergie entre le triplet du ligand et le niveau accepteur du métal. Celle-ci augmente avec la différence d'énergie pour atteindre un maximum puis diminue lorsque la différence d'énergie continue à augmenter.^[24] La différence d'énergie correspondant au maximum d'intensité est de l'ordre de $1\,000\text{ cm}^{-1}$ entre le triplet du ligand (maximum du pic) et le niveau accepteur de l'ion europium(III). Elle est en accord avec les résultats actuels qui stipulent que le transfert d'énergie est le plus efficace pour une différence entre le triplet du ligand (transition 0-phonon) et le niveau accepteur du métal égale à $2500\text{ à }3500\text{ cm}^{-1}$ environ.^[26, 27] Concernant le transfert d'énergie entre l'état triplet du ligand et le niveau accepteur du métal, bien que des données numériques ont été publiées pour certaines séries de complexes avec les polyaminocarboxylates^[27] et des calix[4]arènes,^[26] elles ne peuvent être généralisées. Il vaut mieux considérer le mécanisme du transfert d'énergie, souvent de nature dipôle-dipôle. L'intégrale de recouvrement J entre le spectre d'émission de l'état triplet du ligand et le spectre d'absorption du niveau accepteur du métal peut varier considérablement selon la largeur du spectre d'émission de l'état triplet, mais également selon l'orientation des chromophores par rapport à l'ion Ln(III), ainsi que leur distance mutuelle, r_{DA} , le transfert dipôle-dipôle étant proportionnel à r_{DA}^{-6} .^[17]

Le début des années 1980 est notamment marqué par l'étude des complexes 1:3 de lanthanides et de β -dicétones par luminescence polarisée circulairement. En effet, l'introduction de β -dicétones chirales (dérivés du camphre pour les plus usuels) ou de molécules neutres chirales dans les complexes permettent d'étudier leur activité

optique.^[28, 29] Certaines études sont présentées sous forme de titrage de complexes de lanthanides achiraux par des composés chiraux (amino alcools, esters de phosphate par exemple).^[29-31]

L'addition de molécules neutres, telles la 1,10-phénanthroline et la bipyridine, aux complexes 1:3 d'euporium avec des β -dicétones est toujours d'actualité.^[32, 33] Pour les composés avec des β -dicétones fluorées, l'effet inductif attracteur augmente par rapport aux β -dicétones non fluorées, l'effet donneur sur les oxygènes diminue et donc le caractère ionique entre l'euporium et la β -dicétone augmente, et la liaison Eu(III)-phénanthroline est renforcée. Les pertes d'énergie des états excités par dissipation diminuent. En conclusion, le fait d'introduire une molécule neutre dans le complexe le stabilise et améliore le transfert d'énergie sur l'euporium.

Ces chélates sont étudiés de manière intensive au début des années 1990.^[34-36] Les travaux sont réalisés sur l'absorbance à l'état solide et en solution, les transitions du lanthanide permettant de déterminer la ou les symétries des complexes, le temps de vie des états excités, à 77 K (entre 0.42 et 0.63 ms) et température ambiante (entre 0.12 et 0.61 ms), et le rendement quantique (entre 0.1 et 6.4 %), tout ceci en fonction de différents ligands du type β -dicétone (bzac, dbm, mdbm, dmbm, mfa).^[34] Des compléments sont apportés en étudiant les spectres d'excitation, le nombre de coordination des molécules d'eau et les constantes de stabilité des complexes en solution.^[35]

L'efficacité du transfert d'énergie est évaluée par la mesure du rendement quantique, noté Φ . Il est défini comme étant le rapport du nombre de photons émis par le nombre de photons absorbés par la molécule. L'expression du rendement quantique de luminescence du lanthanide, $\Phi(\text{Ln})$, est donnée par l'équation (7) :

$$\Phi(\text{Ln}) = k_r(\text{Ln}) / (k_{nr}(\text{Ln}) + k_r(\text{Ln})) \quad (7)$$

où k_r et k_{nr} représentent les constantes des vitesses de désactivation du niveau excité du métal, en considérant, respectivement, les contributions radiatives et non radiatives.

Le temps de vie du niveau excité du métal, noté τ , représente l'inverse de la somme $k_{nr}(\text{Ln}) + k_r(\text{Ln})$:

I. Introduction

$$\tau = 1 / (k_{nr}(\text{Ln}) + k_r(\text{Ln})) \quad (8)$$

Le rendement quantique peut ainsi être également exprimé selon l'équation (9) :

$$\Phi(\text{Ln}) = k_r(\text{Ln}) \times \tau \quad (9)$$

On définit de même un rendement quantique pour la conversion intersystème et pour le transfert d'énergie de l'état triplet du ligand vers le niveau accepteur du métal, respectivement $\Phi(\text{CIS})$ et $\Phi(\text{TE})$. Il est alors possible de définir le rendement quantique absolu, Φ_{abs} , donné par l'équation (10) :

$$\Phi_{abs} = \Phi(\text{CIS}) \times \Phi(\text{TE}) \times \Phi(\text{Ln}) \quad (10)$$

Il faut préciser que la valeur de $\Phi(\text{CIS})$ inclut la désactivation de l'état singulet du ligand. Quant à la valeur de $\Phi(\text{TE})$, elle prend en compte l'éventuel transfert en retour évoqué précédemment. Ainsi, l'équation (10) représente l'efficacité de l'effet d'antenne, tenant compte de tous les processus de désactivation ayant lieu lors de la désexcitation d'un complexe du type $[\text{Ln}(\text{L})]$.

Toujours au début des années 1990, le transfert d'énergie intermoléculaire est étudié, dans des solvants organiques.^[37] C'est-à-dire une fois que le transfert d'énergie intramoléculaire dans un complexe 1:3 de lanthanide avec une β -dicétone est élucidé, on observe comment cette énergie peut être transférée vers un autre ion lanthanide qui, lui, est libre en solution. Les temps de vie des états excités sont comparés, les vitesses de transfert quantifiées. De plus, l'interaction de ces complexes induit une diminution non négligeable sur la luminescence de la benzophénone dans le benzène ou l'acétonitrile. Les constantes de désactivation sont déterminées et l'on parle toujours de transfert d'énergie intermoléculaire.^[37]

Des complexes sont également étudiés en milieu micellaire (dodécyl sulfate de sodium, Triton X-100). Les spectres d'excitation, d'émission à différents temps de délai et de façon indépendante du temps sont effectués, les durées de vie des états excités des ions

sont déterminées (144 μ s à 615 nm pour l'euporium).^[38] Les interactions intermoléculaires entre un complexe 1:3 de terbium avec l'acétylacétone et les ions praséodyme, néodyme, holmium et erbium à la surface d'une solution micellaire sont mises en évidence.^[39]

Les complexes d'ions lanthanide encapsulés dans un cryptand et dont une β -dicétone est coordonnée à l'ion sont étudiés en luminescence. Le transfert d'énergie est intramoléculaire et sa vitesse est de $9,7 \cdot 10^9 \text{ s}^{-1}$ pour le complexe $\text{Tb}^{3+} \subset 2.2.1(\text{acac})$ (2.2.1 cryptand = 4,7,13,16,21-pentaoxa-1,10-diazabicyclo[8.8.5]tricosane).^[40] La durée de vie du niveau $^5\text{D}_0$ de l'euporium est de 0.329 ms dans le complexe $\text{Eu}(\text{tta})_3 \cdot (15\text{C}5) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ et de 0.412 ms dans $\text{Eu}(\text{tta})_3 \cdot (18\text{C}6) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.^[41]

I.1.4 Minimisation des désactivations non radiatives

La valeur du rendement quantique, Φ_{abs} , décrit ci-dessus, dépend de paramètres électroniques et vibrationnels imposés par le ligand. En effet, dans ce dernier, les désactivations non radiatives doivent être les plus faibles possible.

Les vibrations qui désactivent le plus un état excité sont celles ayant la plus grande énergie, en particulier quand un atome donneur impliqué dans la vibration est directement relié à l'ion métallique via une liaison chimique. L'efficacité de la désactivation est inversement proportionnelle au nombre de quanta nécessaires à atteindre la différence d'énergie entre le niveau le plus bas de l'état excité et le niveau le plus élevé de l'état fondamental. La désactivation causée par les phonons a comme avantage de servir à déterminer le nombre de molécules d'eau présentes dans les complexes de Sm(III), Eu(III), Tb(III), Dy(III) et Yb(III). Il s'agit de mesurer le temps de vie τ du niveau excité de l'ion, dans l'eau et dans l'eau deutérée.^[42] Si l'on considère que les désactivations non radiatives autres que celles causées par les vibrations de haute énergie sont les mêmes dans les deux solvants, et que l'échange d'eau est rapide à l'échelle du temps de mesure, la différence entre les constantes de désexcitation mesurées sera proportionnelle au nombre d'oscillateurs OH, c'est-à-dire au nombre de molécules d'eau coordonnées, q :

I. Introduction

$$\Delta k_{obs} = k_{obs}(\text{H}_2\text{O}) - k_{obs}(\text{D}_2\text{O}) = \tau^{-1}(\text{H}_2\text{O}) - \tau^{-1}(\text{D}_2\text{O}) \propto q \quad (11)$$

Les facteurs reliant Δk_{obs} et q sont inhérents à la nature du ligand et celle de l'ion coordonné. Suite à de nombreuses études théoriques, plusieurs relations sont apparues principalement pour les complexes d'euprium et de terbium.^[42] Elles seront appliquées au complexe TbL^3 dans la partie IV.2.2 *Caractérisation des complexes en solution*.

Les désactivations électroniques sont également très importantes. En effet, lorsqu'une molécule est excitée suite à l'absorption de lumière, ses propriétés d'oxydo-réduction sont modifiées, et il en résulte un changement de l'état d'oxydation de l'ion Ln(III) . A titre d'exemple, il arrive fréquemment que dans un complexe d'euprium, l'ion Eu(III) soit réduit en ion Eu(II) suite à une excitation sur le ligand.^[43] Ce phénomène est appelé transfert d'électron photo-induit (PET) car l'état excité singulet d'où il s'opère est la conséquence de l'absorption d'un photon. Du point de vue expérimental, il apparaît une bande caractéristique supplémentaire sur les spectres d'absorption ou d'excitation, signifiant l'existence d'un nouvel état transitoire appelé *état de transfert de charge*, du ligand vers le métal (LMCT) ou inversement (MLCT). Si l'on considère les potentiels redox des ions lanthanides dans l'eau, Sm(III) , Eu(III) et Yb(III) sont susceptibles de subir une désactivation réductrice LMCT, tandis qu'une désactivation MLCT ne peut s'appliquer qu'aux ions Ce(III) et Tb(III) . De manière générale, ce type de désactivation entre en compétition avec la désexcitation radiative des ions Ln(III) , et provoque une diminution significative de leur émission.

I.1.5 Transfert d'énergie en retour

La faible différence d'énergie entre les niveaux triplet du ligand et accepteur de l'ion Ln(III) est propice à un transfert en retour vers le ligand. Le phénomène est souvent de type vibrationnel. Son temps de vie dépend alors de la température et peut être décrit par une équation du type Arrhénius (12) :

$$\ln(\tau^{-1} - \tau_0^{-1}) = A + (E_A / RT) \quad (12)$$

où τ et τ_0 sont respectivement les temps de vie actuel et en absence de transfert en retour, ce dernier étant la plupart du temps mesuré à basse température, et E_A représente l'énergie d'activation du processus.

Pour minimiser au maximum les désactivations non radiatives, la nature du ligand est déterminante. En effet, les désactivations entraînant une désexcitation importante des différents niveaux excités étant dues en grande partie à des interactions avec le solvant, il est primordial que le ligand assure une protection efficace contre ce type de désactivations. C'est pourquoi un grand intérêt est porté aux récepteurs pré-disposés, qui encapsulent l'ion lanthanide avant de s'y coordonner, ajustant ainsi au mieux la cavité formée. Quelques familles de composés ont été reconnues pour avoir cette qualité, à savoir les macrocycles flexibles (éther-couronnes), les podands multidentés, et les macrocycles portant des bras fonctionnalisés (cyclène et cyclam).^[44-46]

I.2 Les dérivés du cyclène symétriques et asymétriques

Le cyclène, portant également le nom de 1,4,7,10-tétraazacyclododécane, est une molécule comprenant dans son cycle quatre atomes d'azote espacés entre eux d'un groupe éthylénique (figure 1.6). La recherche pour l'amélioration de la synthèse d'un tel composé est toujours en évolution. Le procédé développé par Richman et Atkins^[47, 48], employant le couplage entre la diéthylènetriamine et la diéthanolamine, toutes les deux tosylées, a longtemps été utilisé.^[49] Puis sont apparues successivement plusieurs voies de synthèse, comme la cyclisation de la triéthylène tétraamine par le glyoxal^[50, 51] ou la butanedione,^[52] la condensation de l'éthylène diamine par le glyoxal,^[53] et plus récemment la condensation de la triéthylène tétraamine par le *N,N*-diméthylformamide diméthylacétal.^[54]

Les quatre amines du cyclène sont secondaires, des réactions d'alkylation y sont donc réalisées, et l'on appelle communément ces substituants des « bras ». Nous dénommerons les molécules portant quatre bras identiques comme étant « symétriques », contrairement à celles portant un bras différent sur les quatre, et que l'on caractérisera d'« asymétriques ». Ce chapitre, très descriptif, est consacré à leur présentation générale et à quelques unes de leurs propriétés.

I.2.1 dérivés du cyclène symétriques

Nous avons choisi de classer les dérivés du cyclène selon les fonctions présentes au sein des bras (figure 1.6). Il se dégage ainsi trois grandes familles de dérivés symétriques : les « carboxylates », les « phosphinates » et les « amides ».

Chaque fonction joue un rôle bien particulier dans la coordination des ligands avec les ions lanthanides, ainsi que dans la solubilité des complexes et dans leurs propriétés débouchant sur des applications (relaxivité, luminescence). A titre d'exemple, les fonctions acides carboxyliques et phosphiniques, lorsqu'elles sont déprotonées, sont très

Les dérivés du cyclène symétriques et asymétriques

solubles dans l'eau et ont un fort pouvoir complexant. Les fonctions amide ont quant à elles l'avantage de se coordonner fortement tout en restant sous forme neutre.

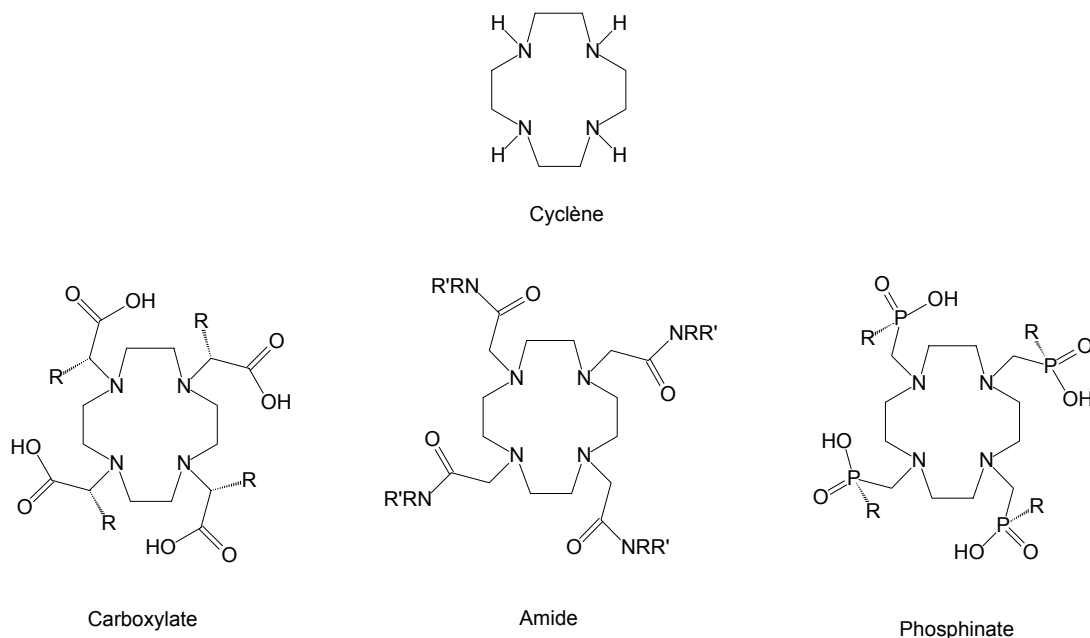


Figure 1.6 : les grandes familles de dérivés du cyclène.

Les substituants R et R' sont couramment une chaîne alkylée,^[55-59] un groupement aromatique (phényle substitué,^[60-62] anthracène ayant diverses configurations^[61, 63, 64]), et dans la famille des phosphinates, un groupement O⁻, conduisant alors à la fonction phosphonate^[65-67].

I.2.2 dérivés du cyclène asymétriques : fonctionnalisation d'un bras

Les ligands symétriques sont dérivés en ligands asymétriques afin de leur attribuer une fonctionnalité supplémentaire. Nous avons regroupé les composés portant des fonctions acides carboxyliques avec ceux portant des fonction acides phosphiniques pour plusieurs raisons. En effet, comme ces deux types de fonctions portent une charge négative lorsqu'elles sont complexées, elles ont ainsi quelques propriétés similaires. Egalement, les composés étudiés lors du travail de thèse portent quatre fonctions amide, et nous souhaitons les traiter à part afin de mettre l'accent sur ces composés.

I.2.2.1 Acides carboxyliques et phosphiniques

Un des quatre bras carboxylates est fonctionnalisé en un bras ayant un groupe chromophore afin d'étudier la luminescence du composé (figure 1.7). Ce groupe chromophore est directement lié au cycle (molécule de gauche) selon une chaîne alkylée de longueur variable^[68] ou lié par une fonction amide, coordinante pour un métal (molécule de droite).^[69]

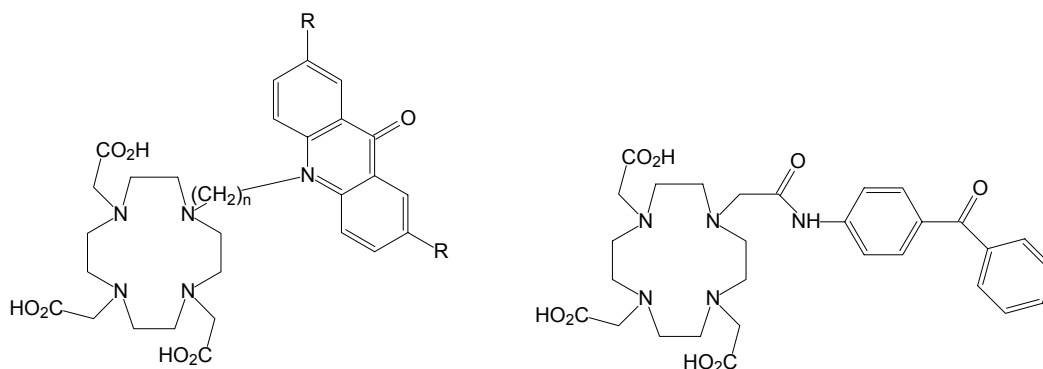


Figure 1.7: composés asymétriques « carboxylates » portant un groupe chromophore.

Un des quatre bras d'entités « carboxylates » est transformé en fonction ester afin de former des dimères via une chaîne alkylée (figure 1.8), ceci dans le but d'augmenter la relaxivité globale de l'agent de contraste obtenu par la coordination avec deux ions Gd(III).^[5]

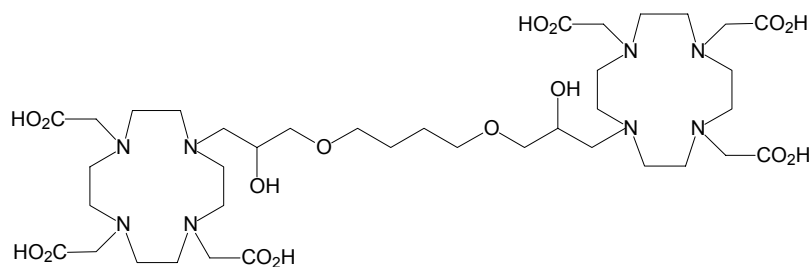


Figure 1.8 : dimère de dérivés « carboxylates » fonctionnalisés.

Les dérivés du cyclène symétriques et asymétriques

La fonctionnalisation d'un bras carboxylate est également utile dans le but de greffer les composés sur du matériel biologique, au moyen de fonctions réactives, telles qu'un ester succinimidique ou bien une fonction thiocyanate (Figure 1.9).^[5]

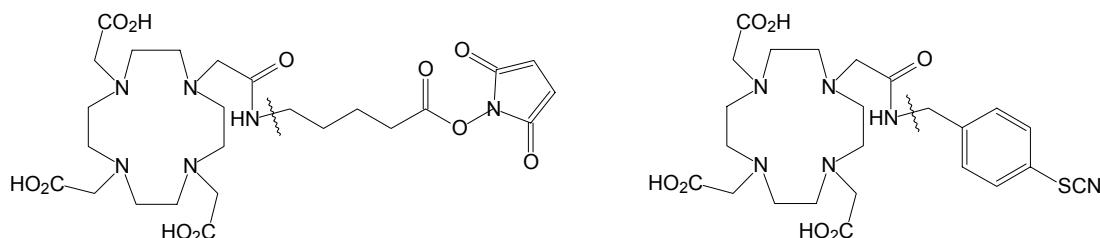


Figure 1.9 : dérivés « carboxylates » ayant une fonction de greffage sur du matériel biologique.

Il existe d'autres composés asymétriques alliant différentes fonctions (figure 1.10). Par exemple, des dérivés « carboxylates » dont les fonctions acides, sur trois bras, ont été doublées en quantité afin d'augmenter la solubilité dans l'eau, et le quatrième portant une fonction sulfonamide,^[55] ou bien encore, il existe des dérivés « phosphinates » ayant un quatrième bras avec une fonction amide.^[70]

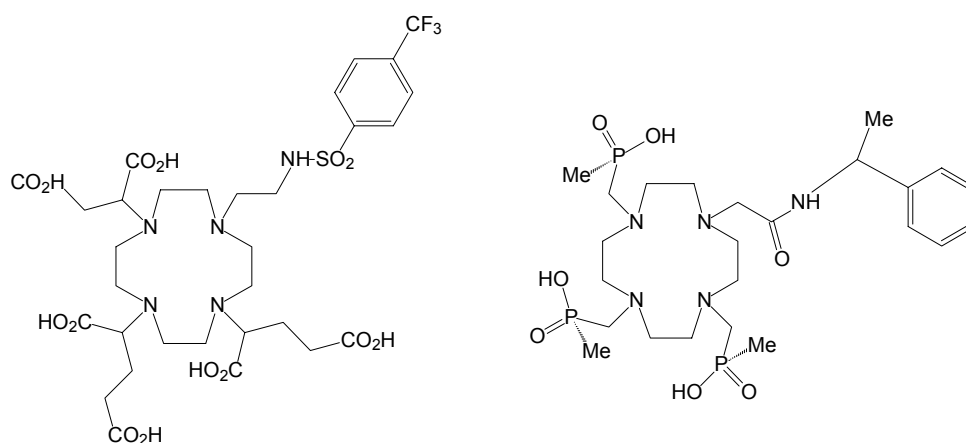


Figure 1.10 : exemples de dérivés « carboxylates » et « phosphinates » plurifonctionnels.

I.2.2.2 Amides

Les quatre bras de certains dérivés « amides » asymétriques portent tous une fonction amide, afin de parvenir à une bonne coordination avec le métal, et un bras comporte un groupement supplémentaire chromophore, destiné à leur conférer des qualités lumineuses (figure 1.11).^[71, 72]

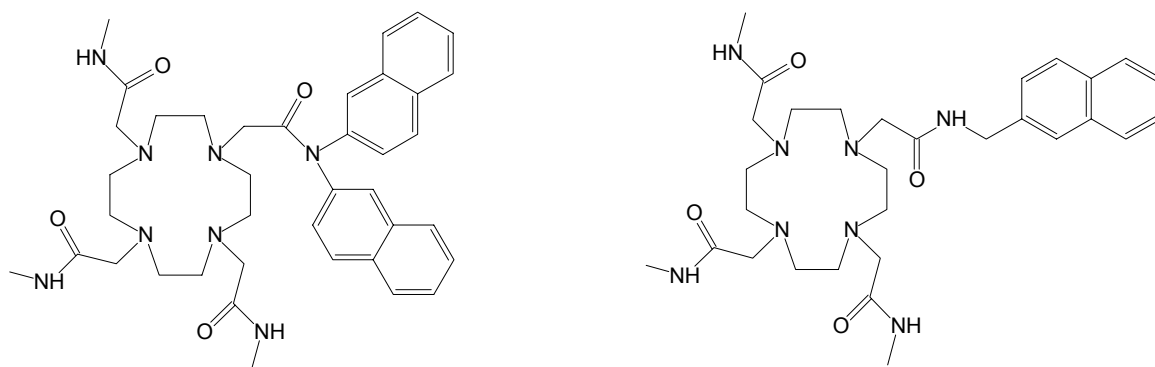


Figure 1.11 : dérivés « amides » ayant un groupe chromophore.

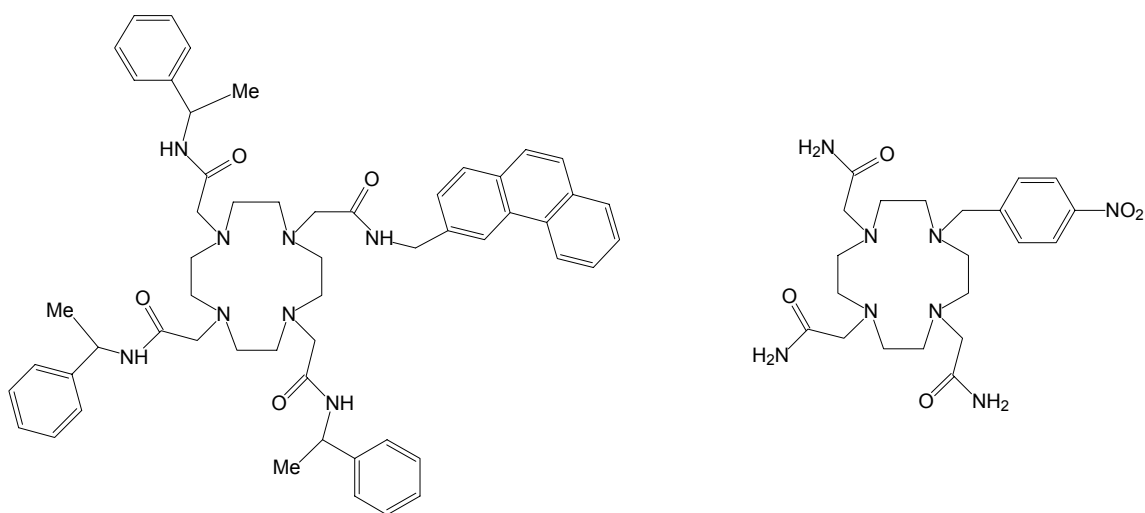


Figure 1.12 : autres exemples de dérivés « amides ».

Les dérivés du cyclène symétriques et asymétriques

Un autre type de composés ayant également quatre fonctions amide porte trois groupes chromophores identiques et un quatrième différent (figure 1.12, gauche), dans le but d'observer la diminution de la luminescence du complexe d'euprium lorsqu'il s'intercale, via cette fonction, dans une séquence d'ADN.^[62, 73, 74]

Les dérivés « amides » asymétriques ne comportent pas tous quatre fonctions amide (figure 1.12, droite), et le groupe chromophore est parfois directement lié au cycle, comme pour les dérivés « carboxylates » vus précédemment.^[75]

Les ligands portant quatre fonctions amide forment des complexes très stables avec les ions lanthanides^[76] et les groupes chromophores liés à leurs extrémités apportent aux complexes de bonnes propriétés photophysiques. Dans le chapitre suivant, nous décrivons l'intérêt d'utiliser les ions lanthanides dans ces complexes.

I.3 Les complexes de lanthanides en tant que sondes luminescentes dans les applications biomédicales

La première utilisation des ions Ln(III) luminescents dans l'analyse de systèmes biologiques fut l'étude de sites métalliques présents dans les protéines, surtout ceux contenant le calcium, où les ions Eu(III) et Tb(III) agissaient, de par la proche valeur de leurs rayons ioniques, comme des sondes en remplaçant le calcium dans les sites et permirent ainsi de déterminer avec une grande justesse le nombre de sites occupés par le calcium, leur composition chimique et leurs distances mutuelles. Une révélation apparut dans les années 1980, quand une firme finlandaise, Wallac Oy de Turku, commercialisa des méthodes d'analyses biologiques basées sur la luminescence de l'ion Eu(III).^[77] Ces analyses fluoroimmunologiques (FIA) consistaient à faire réagir des anticorps marqués à l'aide de chélates de Eu(III) sur les antigènes désirés, puis de déterminer leur concentration grâce à l'intensité de luminescence des anticorps liés. Dès lors, de nombreux groupes de recherche se sont intéressés à ce type d'application et ont développé des molécules organiques spécialement conçues pour encapsuler les ions Ln(III) et optimiser leurs propriétés de luminescence. L'intérêt croissant pour la conception de telles molécules a engendré l'épanouissement d'autres méthodes d'analyses biomédicales, comme le marquage de l'ADN et l'ARN, l'analyse de l'hybridation des acides nucléiques, et le développement de systèmes luminescents utiles pour l'analyse d'entités en quantités infimes. Ces diverses applications, dont la liste n'est pas exhaustive, sont développées au cours des chapitres I.3.1 et I.3.2.

Un intérêt croissant est porté de nos jours à la luminescence dans les méthodes analytiques aux seuils de détection élevés, notamment dans les analyses médicales. Cependant, le matériel biologique est très complexe et comporte de nombreux groupes fluorescents. Les composés luminescents, utilisés pour ces analyses, incluant seulement des molécules organiques, bien que très sensibles, ne sont pourtant pas complètement adaptés au vu de la difficulté à séparer la fluorescence de la sonde du milieu biologique étudié. D'autre part, les ions lanthanides représentent des sondes luminescentes idéales pour les systèmes biologiques car leurs bandes d'émission très fines sont facilement reconnaissables, bien séparées des larges bandes d'émission de fluorescence des

Références

composés organiques, et de plus, comme les ions lanthanides ont des états excités luminescents de grande durée de vie, les mesures de *luminescence en temps résolu* permettent de distinguer clairement leur émission de la fluorescence du matériel biologique.

La sensibilité très élevée de ces mesures en temps résolu réside dans les propriétés uniques de luminescence des complexes de lanthanides. Le signal mesuré est calibré par rapport à une mesure de référence dans le noir, ce qui permet un seuil de détection très élevé, même avec des complexes peu luminescents. En effet, des concentrations allant jusqu'à 10^{-13} - 10^{-15} M sont détectées sans trop de difficultés.

Mais ces qualités ne suffisent pas. Pour obtenir une luminescence suffisamment intense de la part de l'ion lanthanide, il faut lui apporter une quantité d'énergie élevée de manière indirecte, en l'entourant d'un ligand afin de produire *l'effet d'antenne* escompté. En outre, les ions Ln(III) libres sont toxiques lorsqu'ils sont en concentration élevée dans les organismes vivants.^[5, 78] Ils doivent donc être insérés au sein d'édifices très stables d'un point de vue thermodynamique et cinétique, comme ceux évoqués dans les lignes précédentes.

D'autre part, ces sondes luminescentes, doivent pouvoir se greffer à du matériel biologique, via une ou plusieurs fonctions prédéterminées. Les méthodes de marquage du matériel biologique sont très nombreuses, et il est difficile de toutes les décrire.^[11, 79] Néanmoins, celles concernant les chélates de lanthanides sont fréquemment évoquées en utilisant le groupement isocyanatophényle (figure 1.13), dont la fixation au récepteur est pourtant parfois expérimentalement difficile, les groupements chlorosulfonyles, donnant de bons résultats avec des chromophores relativement complexes, les amines primaires, les fonctions acides carboxyliques et esters succinimidyles,^[80] situés à l'extrémité d'une chaîne aliphatique. Toutes réagissent communément avec les fonctions amines, présentes en grandes quantités dans les systèmes biologiques et forment des liaisons covalentes.

Suite à cette brève présentation des principes de l'utilisation des complexes de lanthanides en tant que sondes luminescentes en milieu biologiques, nous allons présenter quelques exemples d'applications concrètes, dont la liste n'est pas exhaustive. Les premières sont les sondes luminescentes servant à détecter des entités spécifiques

I. Introduction

couramment présentes en faibles quantités, comme les hydrocarbures polyaromatiques, ou les protons, les secondes traitent des analyses fluoroimmunologiques en milieu hétérogène et homogène, ainsi que des analyses multiplex.

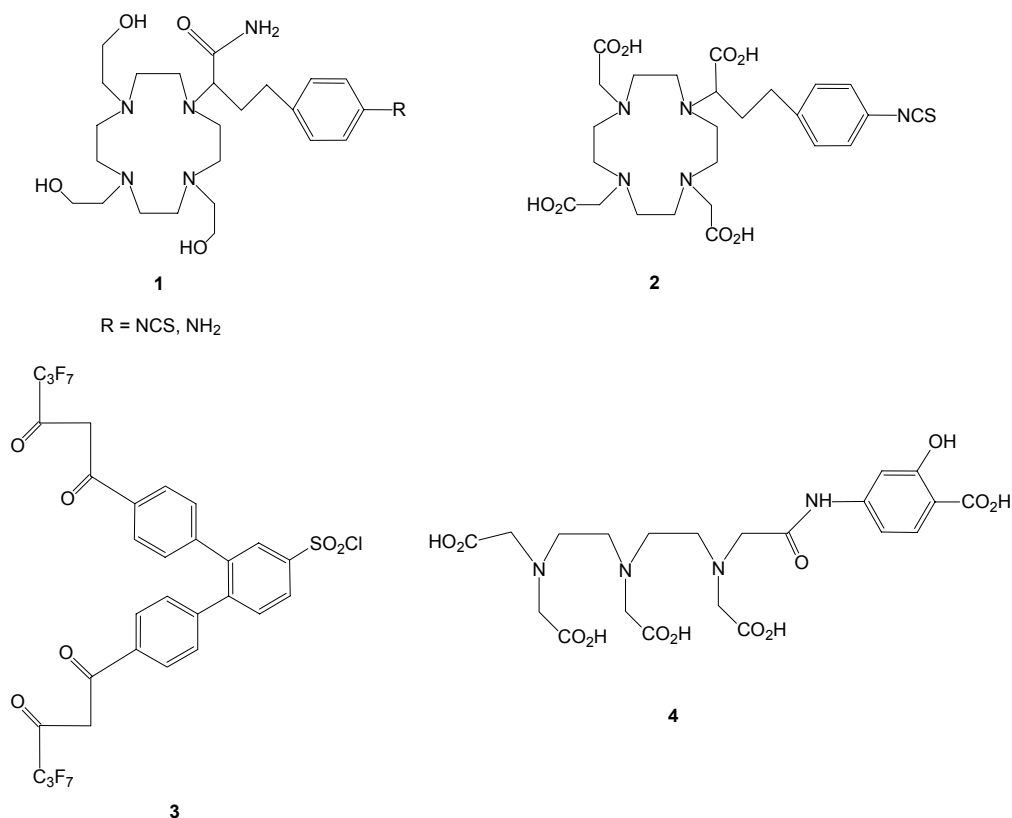


Figure 1.13 : fonctions couramment utilisées dans les complexes de lanthanides luminescents pour le marquage de matériel biologique :

- 1** 1-[1-carboxamido-3-(4-aminophényl)propyl]-4,7,10-tris(2-hydroxyéthyl)-1,4,7,10-tétraazacyclododécane (CAPHC)
- 1-[1-carboxamido-3-(4-isothiocyantophényl)propyl]-4,7,10-tris(2-hydroxyéthyl)-1,4,7,10-tétraazacyclododécane (CIPHC)^[81]
- 2** 1-[1-carboxy-3-(4-isothiocyantophényl)propyl]-4,7,10-tris(acide acétique)-1,4,7,10-tétraazacyclododécane (PA-dota)^[82]
- 3** (4,4'-bis(1'',1'',1'',2'',2'',3'',3''-heptafluoro-4'',6''-hexanedion-6''-yl)chlorosulfo-o-terphényl) (BHHCT)^[83]
- 4** p-aminosalicylate-dtpa (dtpa-pAS)^[84]

I.3.1 Les sondes luminescentes

Les domaines d'application des sondes luminescentes comprenant des ions lanthanides sont très nombreux et variés. A titre d'exemple, D. Parker et ses collaborateurs ont développé plusieurs systèmes de sondes luminescentes avec les dérivés du cyclène pour déterminer les valeurs de pH et de pO₂ dans l'eau, ainsi que la concentration de différents anions présents dans les milieux biologiques, tels que les halogénures Cl⁻, Br⁻ et I⁻, mais aussi les anions hydrogéo-carbonate, hydrogéo-phosphate, lactate, et citrate.^[85] Ils ont ensuite continué leurs recherches dans ce domaine en concevant d'autres complexes de lanthanides avec des dérivés du cyclène afin d'élargir le panel de molécules détectables.^[86] D'autre part, ils ont allié cette puissante méthode analytique avec celles des rayons X et la Résonance Magnétique Nucléaire afin de définir l'interaction de tels complexes de lanthanides avec des anions acétate, lactate, citrate et divers amino-acides tels que la glycine, la sérine ou l'histidine.^[87]

Nous avons choisi de présenter deux illustrations, à savoir les senseurs d'hydrocarbures aromatiques et les senseurs de pH, explicitant leur mode d'utilisation. Dans la première, la détection est basée sur l'observation de l'augmentation significative de la luminescence et dans la deuxième, sa flagrante diminution.

I.3.1.1 Senseurs d'hydrocarbures polyaromatiques^[88]

Un senseur luminescent de la molécule de biphényle a été développé. Il est basé sur le transfert d'énergie lumineuse entre la sonde et la molécule cible. Le système de détection est composé d'un complexe de terbium avec le ligand dtpa (acide diéthylènepentaacétique) attaché par deux fonctions amides à une bêta-cyclodextrine (figure 1.14). En solution aqueuse, la luminescence du terbium est peu intense, le dtpa n'étant pas un bon sensibilisateur de l'ion Tb(III), mais en présence de biphényle, elle est drastiquement augmentée, d'un facteur 40 pour une concentration en biphényle de 10 ppm seulement. Cette augmentation subite de la luminescence de l'ion terbium provient de l'énergie absorbée par le biphényle qui lui est ensuite transférée. En effet, le biphényle

I. Introduction

vient se placer au centre de la b β -cyclodextrine, formant un syst \acute me supramol \acute culaire. La distance entre le biph \acute nyle et l'ion m \acute tallique est alors faible, environ de 5 \AA , et donc propice \grave un transfert d' \acute nergie. Enfin, l' \acute nergie d' \acute mission du biph \acute nyle recouvre l' \acute nergie d'absorption du terbium, provoquant une excitation indirecte du niveau $^5\text{D}_4$ de l'ion Tb(III) et ainsi son \acute mission caract \acute ristique.

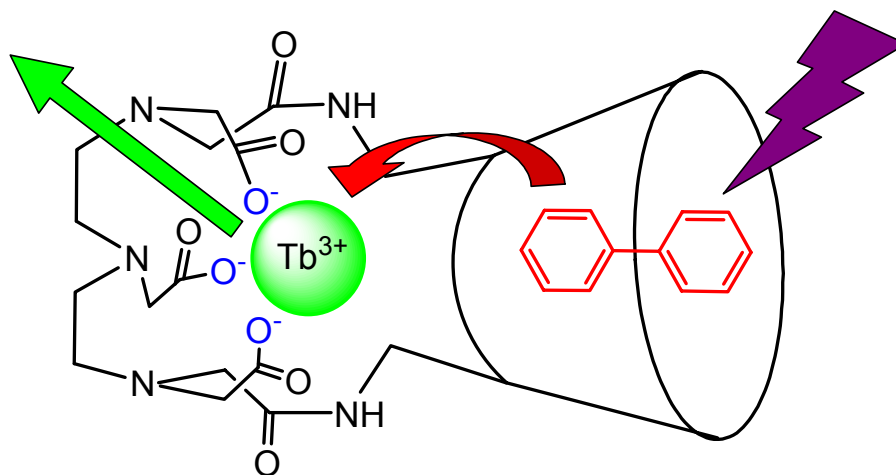


Figure 1.14 : schéma de la sonde luminescente servant à la détection du biphenyle.

L'intérêt majeur d'utiliser le ligand dtpa réside dans le fait qu'il comporte trois fonctions acides carboxyliques qui se déprotonent lors de sa complexation avec l'ion Tb(III), et il en résulte un complexe neutre, qui favorise l'approche de molécules d'hydrocarbures, diminuant la distance entre les deux composés et favorisant l'efficacité du transfert d'énergie lumineuse.

La luminescence de la sonde est également augmentée en présence de benzène, mais dans une moindre mesure à cause de la plus faible interaction entre le benzène et la β -cyclodextrine.

Une sonde du naphtalène, basée sur le même type de structure mais en utilisant un dérivé du cyclène avec trois bras portant une fonction acide carboxylique et un quatrième portant une fonction amide reliée à une bêta-cyclodextrine, a été étudiée.^[89]

I.3.1.2 Senseur de pH^[90]

Dans cet exemple, la luminescence du complexe d'euprium avec un dérivé du cyclène du type DO3A (1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7-triacétique) est sensible à la protonation d'une fonction sulfonamide, portée par le bras fonctionnalisé (figure 1.15).

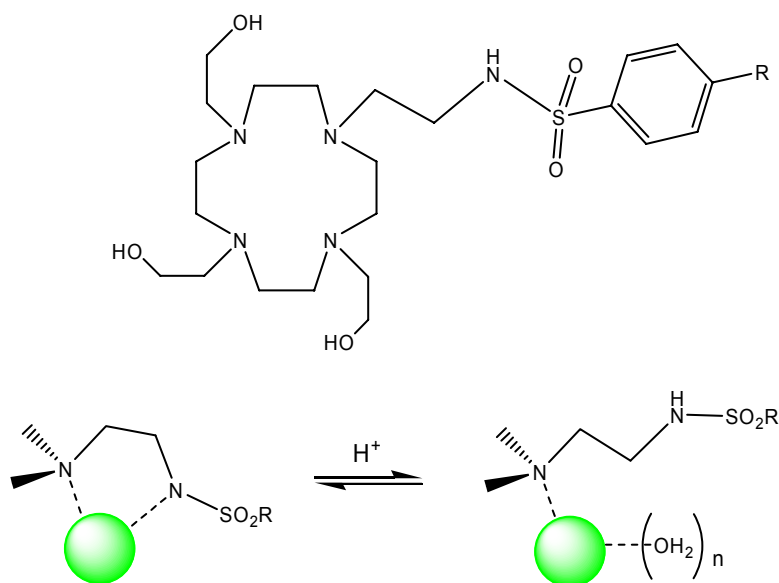


Figure 1.15 :

Haut : dérivé du DO3A comportant un bras fonctionnalisé ; R = CF₃, CH₃, OCH₃.
Bas : schéma de protonation de la fonction sulfonamide.

En milieu basique, la fonction sulfonamide est déprotonée, et son atome d'azote est coordonné au centre métallique. En milieu plus acide, c'est-à-dire pour un pH inférieur à la constante d'acidité apparente du complexe, la fonction sulfonamide est protonée et laisse place à des molécules d'eau au sein de la sphère de coordination de l'ion Eu(III), diminuant ainsi très fortement la luminescence du composé de par les vibrations OH du solvant. La diminution de l'intensité de luminescence est, dans cet exemple, mise à contribution dans le développement de la sonde luminescente, permettant ainsi de différencier l'ordre de grandeur du pH de la solution.

En outre, une étude faisant varier la nature du substituant R du benzène a montré son influence sur le caractère acide de la fonction sulfonamide.

I.3.2 Les analyses fluoroimmunologiques

Dans les années 1970, un grand intérêt pour l'utilisation de sondes luminescentes dans les méthodes d'analyses biomédicales s'est manifesté, et plusieurs méthodes furent développées, dont l'analyse fluoroimmunologique.^[91] Elle consista, dans les débuts, en l'utilisation de composés fluorescents destinés à marquer les molécules ciblées, et la luminescence des sondes était alors mesurée. Ce type de marquage fut incorporé au sein de nouveaux composés thérapeutiques et entra progressivement en compétition avec les traditionnelles analyses radioimmunologiques, restant cependant les plus largement usitées, en dépit des inconvénients liés à la radioactivité. L'essor des analyses fluorimétriques a connu un ralentissement dû à leur manque de sensibilité, causé par la présence de sondes non liées et d'autres composés fluorescents faisant partie du milieu biologique, provoquant d'importantes interactions avec les mesures de luminescence. Afin de garder un aspect compétitif vis-à-vis des analyses radioimmunologiques, il fallait donc que le signal luminescent spécifique à la sonde liée soit différencié des signaux interférents, ou alternativement, qu'il soit amplifié afin de diminuer le rapport signal sur bruit. C'est ainsi que fut développée une nouvelle génération d'analyses fluoroimmunologiques, incluant des complexes de lanthanides en tant que sondes luminescentes. En effet, les avantageuses propriétés de luminescence des ions Eu(III), Sm(III), Tb(III) et Dy(III), définissant de fines bandes d'émission, de grands déplacements de Stokes et des temps de vie relativement longs (de l'ordre de la micro- à la milliseconde), donna lieu aux nouvelles *analyses fluoroimmunologiques en temps résolu* (TR-FIA). Deux types d'analyses biomédicales se détachèrent et furent jusqu'à nos jours exploitées : les analyses en milieu hétérogène et homogène, que nous allons décrire.

I.3.2.1 Les analyses en milieu hétérogène : DELFIA® et CyberFluor®

Le système de mesure fluorimétrique en temps résolu le plus utilisé, nommé DELFIA® (Dissociation Enhancement Lanthanide FluoroImmunoAssay), fut développé par un groupe de recherche de la compagnie finlandaise Wallac Oy dans les années 1980.^[77]

Les sondes utilisées furent les complexes d'euprium formés avec les ligands acide isothiocyanatophényl-éthylènediamine-*N,N,N',N'*-tétraacétique (figure 1.16-a) et acide *N*-(isothiocyanatobenzyl)-diéthylènetriamine-*N,N',N'',N'''*-tétraacétique (figure 1.16-b).

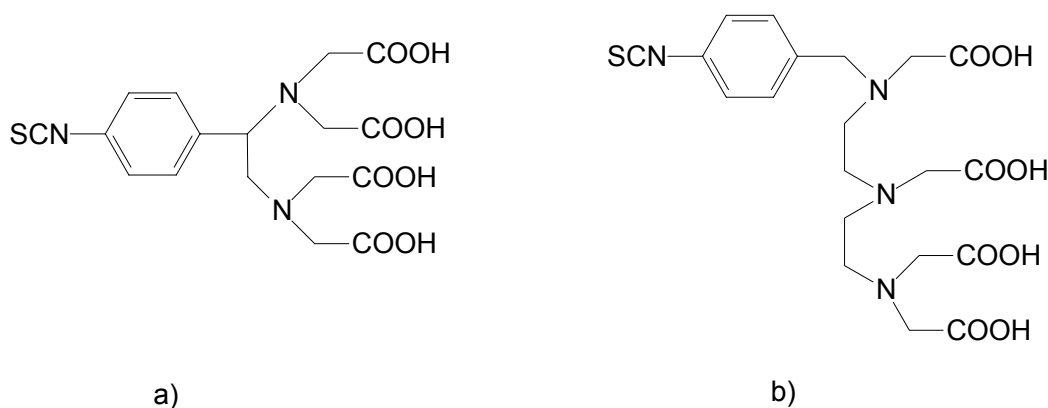


Figure 1.16 : schéma des ligands utilisés en tant que sondes pour les analyses DELFIA®.^[92]

Ces deux complexes sont peu luminescents, les priorités étant en premier lieu d'optimiser leur solubilité dans l'eau, donc en évitant les groupements aromatiques, et de les faire réagir sur le matériel biologique ciblé (analyte) par la fonction isothiocyanate.

L'analyte est auparavant fixé sur un support solide, puis les sondes réagissent sur l'analyte, au moyen d'un agent spécifique de liaison (figure 1.17). Le milieu est ensuite lavé des sondes n'ayant pas réagi et le pH est abaissé à une valeur de 3 environ. La luminescence de l'ion Eu(III) est révélée par la suite, à l'ajout d'une solution micellaire (Triton X-100), contenant une bêta-dicétone, la 2-naphtoyltrifluoroacétone (2-NTA), et l'oxyde de tri-*n*-octylphosphine (TOPO). L'ion Eu(III) se libère du ligand non luminescent, en pH acide, pour être coordonné par trois molécules de bêta-dicétone et deux de TOPO, faisant ainsi place au complexe $[Eu(2-NTA)_3(TOPO)_2]$ très luminescent. Les molécules de TOPO servent à expulser les molécules d'eau de la sphère de coordination interne du métal, améliorant ainsi le mouvement du complexe dans le milieu

I. Introduction

micellaire, sa luminescence et à prolonger le temps de vie de l'ion Eu(III) . Le complexe formé est emprisonné dans des micelles de Triton X-100 afin d'augmenter sa luminescence, qui est alors mesurée. Le rendement quantique de cette entité complexe atteint 61 %.^[79]

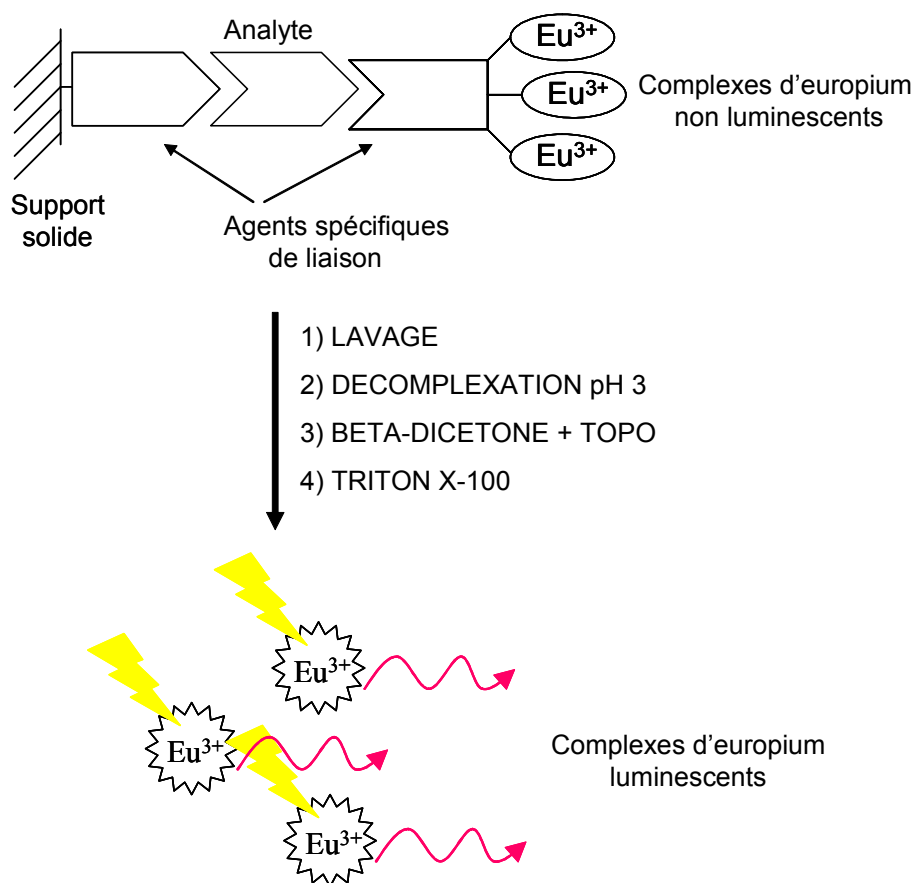


Figure 1.17 : principe des analyses DELFIA®.

Un autre système d'analyse, appelé CyberFluor® ou FIAgen®,^[93] nécessite moins de manipulations car le ligand utilisé, l'acide 4,7-bis(chlorosulfonylphenyl)-1,10-phénanthroline-2,9-dicarboxylique (figure 1.18), a également la faculté de sensibiliser l'émission de l'ion Eu(III) lorsqu'il est complexé. Le ligand forme un complexe 1 : 1 avec l'ion Eu(III) , les atomes coordinants du ligand étant les deux atomes d'oxygène des fonctions carboxylates et les deux atomes d'azote cycliques. Les deux fonctions chlorure de thionyle servent à greffer le complexe sur l'analyte, en réagissant avec ses fonctions

Références

amine. Il se peut que chaque fonction chlorure de thionyle réagisse avec deux entités différentes, créant ainsi un polymère.

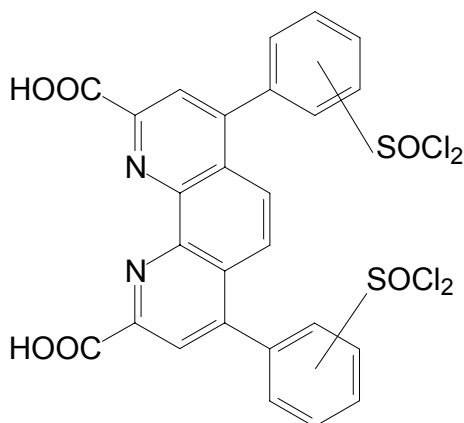


Figure 1.18 : ligand utilisé en tant que sonde pour les analyses CyberFluor[®].

Suite au couplage de la sonde avec l'analyte, suivi d'un lavage, la luminescence de la solution est donc directement mesurée (figure 1.19). Cette méthode d'analyse a l'inconvénient d'être moins sensible que la précédente, car l'émission du complexe d'euprium est ici moins intense, en partie dû à la présence d'un complexe 1 : 1 qui permet l'insertion de molécules d'eau dans la sphère de coordination de l'ion métallique, désactivant son émission.

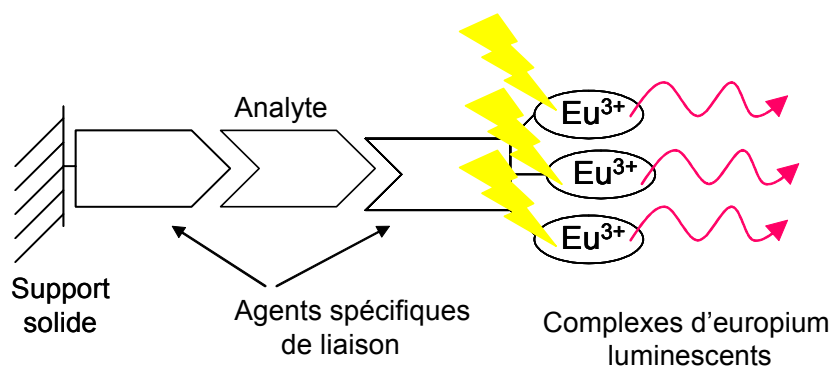


Figure 1.19 : principe des analyses CyberFluor[®].

I.3.2.2 FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) et les analyses en milieu homogène

L'un des premiers systèmes d'analyse fluorimétrique en milieu homogène, et de nos jours l'un des plus utilisés, est le transfert d'énergie FRET, qui fut décrit dès 1948.^[17] Le premier dosage immunologique fut développé par la firme Syva en 1976^[94] et repris plus tard par P. Selvin afin de déterminer la distance séparant deux entités, la première étant fluorescente et la seconde ne l'étant pas forcément, dans un rayon de 10 à 15 Å.^[95] Les entités dont il est question sont nommées respectivement le donneur et l'accepteur. Le spectre d'absorption de l'accepteur doit recouvrir le spectre d'émission du donneur, et les deux entités doivent être proches, afin qu'après excitation du donneur, celui-ci transfère son énergie lumineuse à l'accepteur, *sans qu'il y ait l'émission d'un photon*.^[96] Un tel transfert d'énergie s'effectue selon un mécanisme dipole-dipole du type Förster, et son efficacité (E) dépend de la distance entre les deux entités (12).

$$E = R_0^6 \cdot (d^6 + R_0^6)^{-1} \quad (12)$$

où d représente la distance entre les deux entités et R_0 est une variable qui dépend des propriétés des entités, tel que leur intégrale de recouvrement J .

L'utilisation de fluorophores conventionnels produit souvent un faible rapport signal sur bruit, venant de l'émission du donneur et de l'excitation directe de l'accepteur. Ainsi, l'introduction d'un complexe de lanthanide dans le système en tant que donneur et d'une molécule organique en tant qu'accepteur, et l'emploi de la mesure de luminescence en temps résolu élimine ces perturbations et augmente l'efficacité du transfert d'énergie, d'où une plus grande sensibilité de l'analyse.

Dans les analyses fluoroimmunologiques, développées principalement par E. Diamandis^[97] et G. Mathis^[98, 99], et basées sur un tel système, le complexe de lanthanide sert à marquer un anticorps et l'accepteur est lié à un antigène, et le dosage est ainsi réalisé en milieu homogène, une fois que l'anticorps et l'antigène sont liés à l'analyte (figure 1.20).^[100]

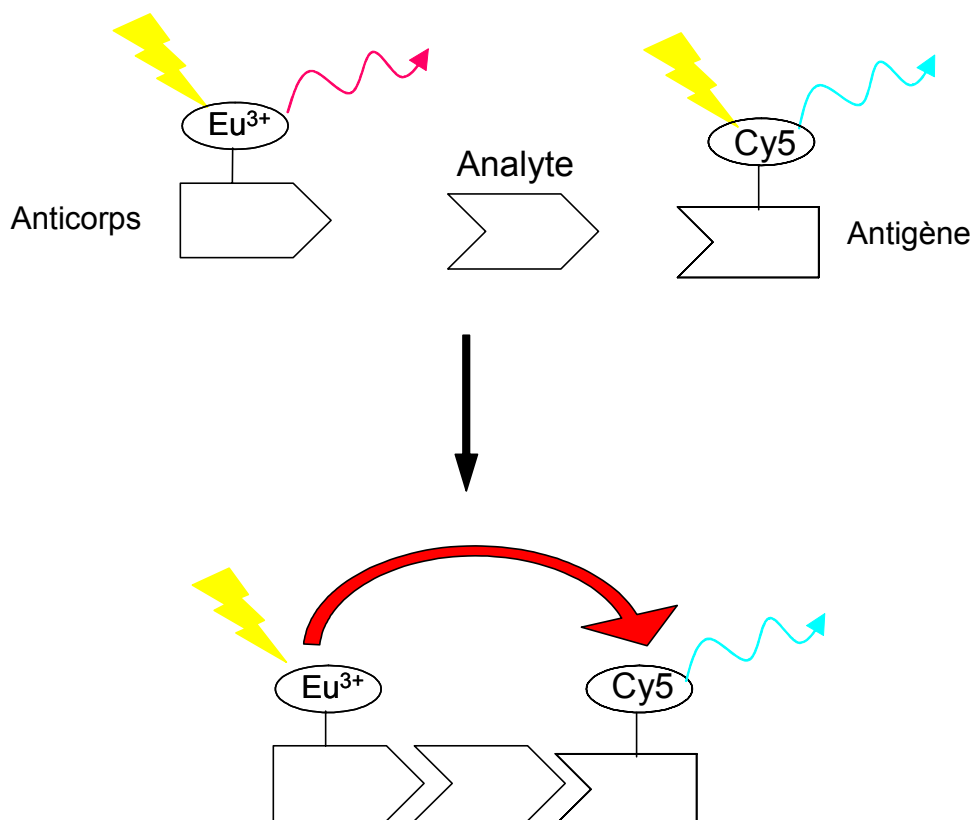


Figure 1.20 : principe des analyses fluoroimmunologiques homogènes.

L'avantage majeur de cette méthode est que les anticorps et les antigènes liés à l'analyte n'ont pas besoin d'être séparés de ceux non liés ce qui supprime l'étape de lavage des analyses en milieu hétérogène, la rendant plus simple et plus rapide. En effet, l'émission du complexe de lanthanide de l'anticorps lié est beaucoup moins intense que celle du complexe de l'anticorps non lié, et l'émission de l'accepteur de l'antigène lié s'effectue après un temps qui correspond au temps du transfert d'énergie, alors que celle de l'accepteur de l'antigène non lié est immédiate. On peut donc différencier ces trois signaux en effectuant des mesures de luminescence en appliquant un délai entre l'excitation du complexe et la mesure de l'émission de l'accepteur.

La recherche dans ce domaine est actuellement concentrée sur le développement de complexes de lanthanides très luminescents et stables afin de les utiliser dans les analyses fluoroimmunologiques en milieu homogène, en tant que marqueurs de cellules. Cette nouvelle génération de marqueurs devrait permettre, d'un point de vue pratique,

I. Introduction

d'éliminer toute étape de lavage, ou de sensibilisation de la luminescence durant les dosages.

La conception de tels complexes de lanthanides est basée sur les critères suivants :

- Bonne coordination : le ligand doit saturer la sphère de coordination interne du métal afin de le protéger, lorsqu'il est excité, des désactivations non radiatives causées par le solvant.
- Excellentes stabilités thermodynamique et cinétique : le complexe doit pouvoir être stocké ; en particulier, le ligand doit rester fortement lié au métal, surtout dans les conditions difficiles que sont les milieux biologiques, à savoir des solutions aqueuses tamponnées, en présence d'autres agents complexants et d'autres métaux.
- Grande solubilité en milieu aqueux : la luminescence doit être la plus intense et la plus homogène possible (pas de précipité).
- Transfert d'énergie efficace : le chromophore du ligand doit avoir un coefficient d'absorption molaire supérieur à $10\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ afin d'engendrer un bon effet d'antenne. Egalement, ses états triplet et singulet doivent avoir des niveaux d'énergie placés par rapport à ceux du métal de telle sorte à engendrer le meilleur transfert intramoléculaire possible.
- Couplage sur le matériel biologique aisé : le marqueur doit pouvoir être greffé facilement sur les sites actifs des composés biologiques ciblés, sous des conditions de réactions relativement douces.

L'étude du transfert d'énergie en milieu homogène est très utilisée pour caractériser les longueurs des séquences d'ADN. Il a été récemment reporté l'étude de l'efficacité du transfert d'énergie entre quatre paires donneur / accepteur sur des séquences d'ADN de différentes longueurs.^[101]

La détection de l'hybridation de l'ADN par l'étude du transfert d'énergie en milieu homogène est de plus en plus affinée. Citons en exemple celle développée par P. Selvin,^[102] où un complexe d'euprium formé avec un ligand dérivé de l'acide diéthylènetriaminepentaacétique (dtpa) fonctionnalisé avec une fonction carbostyryl-124, est le donneur et la molécule organique, notée Cy5, est le récepteur (figure 1.21).

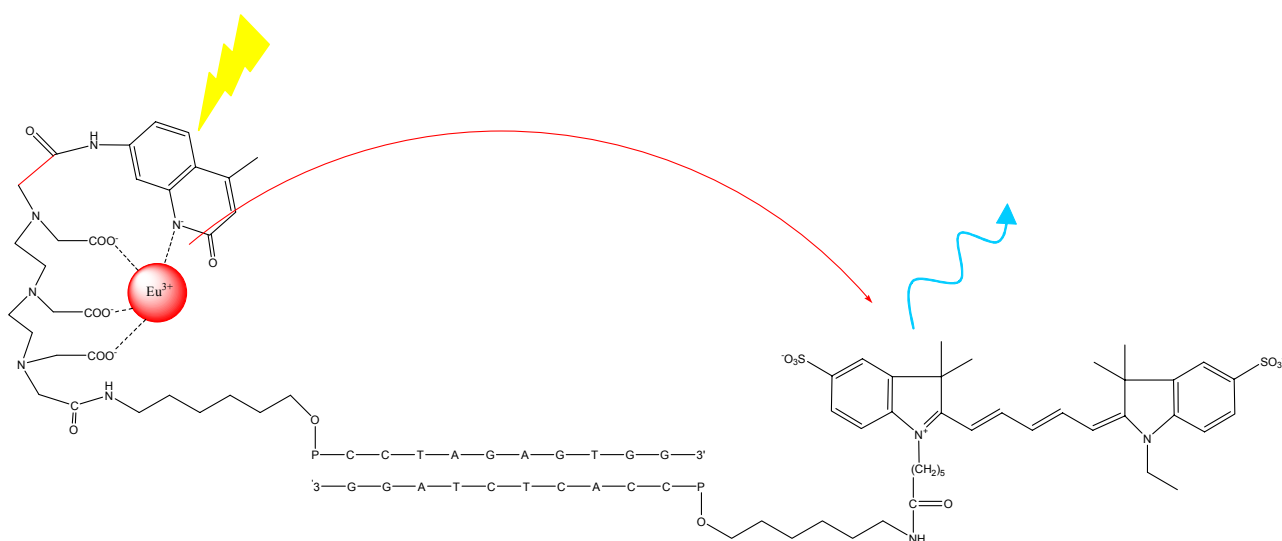


Figure 1.21 : analyse fluoroimmunologique servant à la détection de l'hybridation de l'ADN.

Le donneur est greffé à l'extrémité 5' d'un brin d'ADN et l'accepteur à l'extrémité 5' du brin d'ADN complémentaire au premier. Lorsque l'hybridation a lieu, les deux brins d'ADN se lient et le donneur et l'accepteur sont alors situés l'un de l'autre à une distance suffisante pour que le transfert d'énergie se réalise. L'émission de Cy5 est alors mesurée, tout en étant clairement différenciée de celle de l'émission de l'ion Eu(III) par la longueur d'onde et la durée d'émission, et de celle causée par l'excitation directe de Cy5 par le temps de vie. La mesure des temps de vie a permis de déterminer la distance approximative entre les deux entités, qui est de 46 Å.

La méthode appliquée au complexe de terbium avec le même ligand, et à un dérivé de la rhodamine, a permis d'étudier l'influence de l'espacement entre les deux entités sur l'efficacité du transfert d'énergie.^[100]

Plus récemment, un complexe d'euprium avec une bêta-dicétone, BHHCT (4,4'-bis (1'',1'',1'',2'',2'',3'',3''-heptafluoro-4'',6''-hexanedion-6''-yl)chlorosulfo-*o*-terphényl) a été étudié en tant que donneur en présence de Cy5 comme accepteur. Le complexe d'euprium est greffé sur le brin d'ADN via le système streptavidine-biotine.^[103]

I.3.2.3 Analyses multiplex

Les bandes d'émission des complexes des ions Eu(III), Sm(III), Tb(III) et Dy(III) sont très fines, intenses, et attribuées à des longueurs d'onde distinctes. Ces propriétés photophysiques permettent de les utiliser en tant que sondes luminescentes simultanément pour doser de deux à quatre composés différents dans une même solution. De tels titrages multiples ont été reportés pour les systèmes Eu(III)-Sm(III),^[104-107] Eu(III)-Tb(III),^[108, 109] et Eu(III)-Sm(III)-Tb(III)-Dy(III). Le premier dosage a été réalisé grâce à l'utilisation d'une solution contenant la bêta-dicétone 2-naphtoyltrifluoroacétone, l'oxyde de tri-*n*-octylphosphine, TOPO et le Triton X-100 afin d'augmenter l'intensité de luminescence des composés. Cette solution n'est par contre pas efficace pour les complexes d'ions Tb(III) et Dy(III). Une autre solution, qui se compose de PTA (pivaloyltrifluoroacétone), Triton X-100 et de 1,10-phénanthroline, a donc été développée afin de procéder au titrage avec les complexes des quatre ions lanthanides différents.^[110] Ils permirent de doser la TSH (une hormone stimulant la glande thyroïde), la 17 α -hydroxyprogestérone, la trypsine immunoréactive et l'isoenzyme MM créatine kinase. Les limites de détection des quatre ions sont de 0.035 pmol.L⁻¹ pour l'ion Eu(III), 7.9 pmol.L⁻¹ pour l'ion Sm(III), 0.34 pmol.L⁻¹ pour l'ion Tb(III), et de 46 pmol.L⁻¹ pour l'ion Dy(III).

I.4 But du travail

Les complexes luminescents d'ions lanthanides ayant pour base le cyclène (1,4,7,10-tétraazacyclododécane) ayant des bras fonctionnalisés par une fonction amide sont de plus en plus étudiés de par leurs grandes stabilités cinétique et thermodynamique.^[111, 60] Dans le but de sensibiliser efficacement la luminescence des ions Eu(III) et Tb(III), G. Zucchi avait synthétisé deux ligands, **L**¹ et **L**², comportant des fonctions phénacyle et donnant des complexes très luminescents dans l'eau (figure 1.22).^[43, 112]

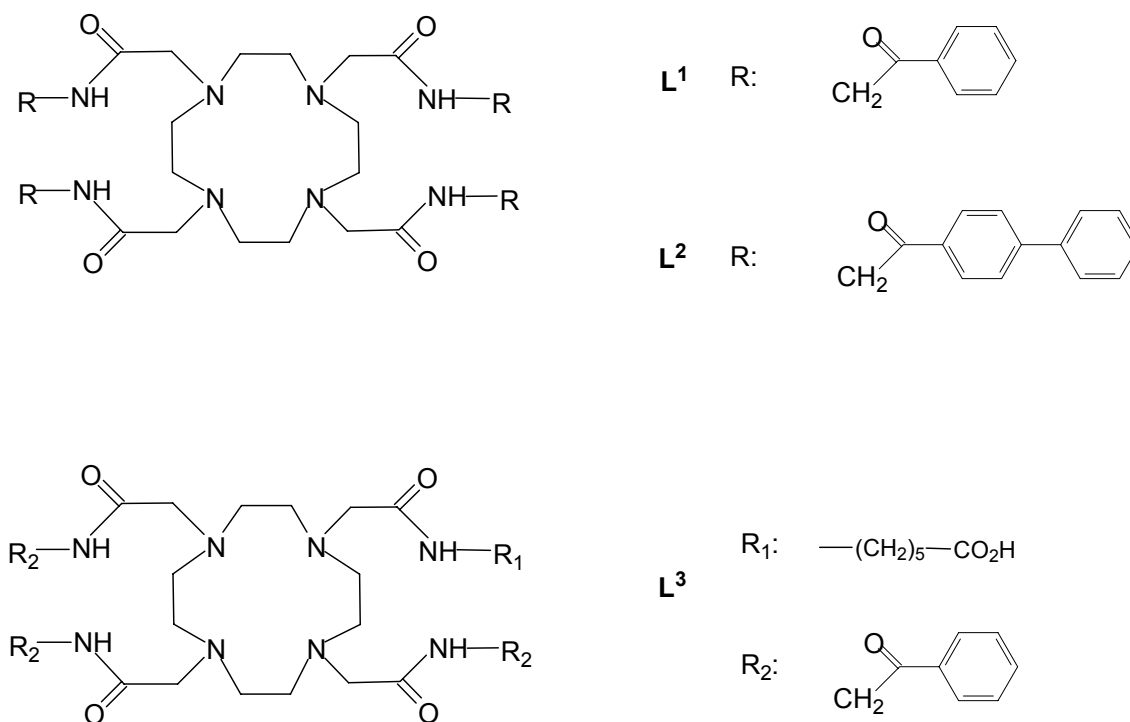


Figure 1.22 : schéma des ligands étudiés dans la thèse.

Une étude additionnelle des rendements quantiques des complexes d'euprium, de samarium, de terbium et de dysprosium des ligands **L**¹ et **L**² est présentée au cours du chapitre II de cet ouvrage, complétant ainsi les résultats enthousiasmants obtenus.

I. Introduction

Il nous est alors paru concevable d'élaborer des sondes pour les analyses biomédicales en milieu homogène à partir de ces deux ligands, en leur apportant une fonctionnalité supplémentaire essentielle : le couplage au matériel biologique. Ainsi, la synthèse du nouveau ligand L^3 a été mise en œuvre afin de remplacer l'un des bras du ligand L^1 par un autre ayant la double fonctionnalité de coordonner efficacement l'ion Tb(III), afin de lui conférer le meilleur effet d'antenne, et celle de pouvoir se greffer à du matériel biologique, comme des protéines ou des acides aminés (figure 1.23). Nous avons choisi de garder la fonction amide pour la première et de lui ajouter la fonction acide carboxylique pour la seconde. Les différents essais de synthèse sont décrits dans la partie III.

La partie IV est consacrée à la caractérisation des complexes de lanthanides des ligands L^1 et L^3 , ainsi que la comparaison de leurs propriétés thermodynamiques et photophysiques. Enfin, une étude du transfert d'énergie entre le complexe TbL^3 et l'accepteur Cy5 donne un aspect plus appliqué à ce travail.

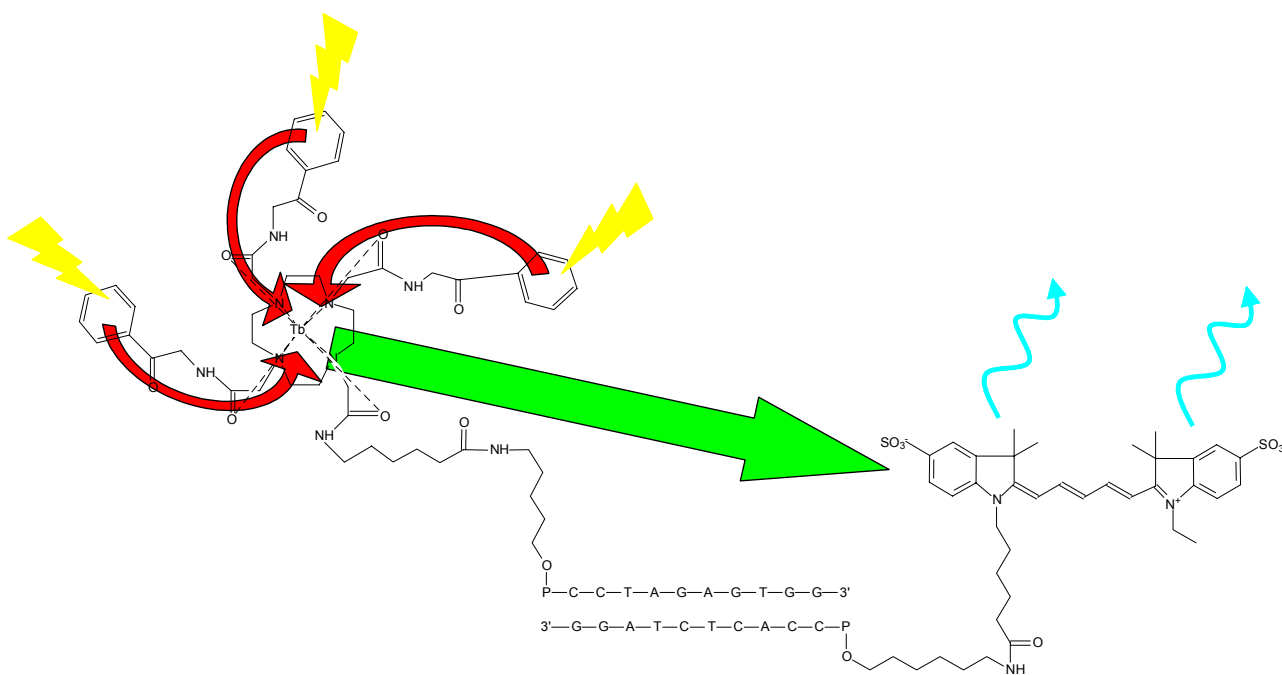


Figure 1.23 : utilisation souhaitée du complexe TbL^3 dans la détection de l'hybridation de l'ADN.

Références

- [1] M. Latva, H. Takalo, V.-M. Mikkala, J. Kankare, *Inorg. Chim. Acta* **1998**, 267, 63.
- [2] M. Latva, J. Kankare, K. Haapakka, *J. Coord. Chem.* **1996**, 38, 85.
- [3] S. T. Frey, W. d. W. Horrocks Jr, *Inorg. Chim. Acta* **1995**, 229, 383.
- [4] H. B. Gray, *Les électrons et la liaison chimique, Edition Française*, InterEditions, Paris, **1978**.
- [5] A. E. Merbach, E. Tóth, *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, **2001**.
- [6] G. M. Nicolle, E. Tóth, H. Schmitt-Willich, B. Radüchel, A. E. Merbach, *Chem. Eur. J.* **2002**, 8, 1040.
- [7] F. Yerly, K. I. Hardcastle, L. Helm, S. Aime, M. Botta, A. E. Merbach, *Chem. Eur. J.* **2002**, 8, 1031.
- [8] R. D. Shannon, *Acta Crystallogr. A* **1976**, 32, 751; R. D. Shannon, C. T. Prewitt, *Acta Crystallogr. B* **1969**, 25, 925.
- [9] J.-C. G. Bünzli, in *Rare Earths* (Eds.: R. Saez, P. A. Caro), Editorial Complutense, Madrid, **1998**, p. 246.
- [10] F. A. Dunand, L. Helm, A. E. Merbach, *Advances in Inorganic Chemistry* **2003**, 54, 1.
- [11] J.-C. G. Bünzli, in *Metal Ions in Biological Systems, Vol. 42* (Eds.: A. Sigel, H. Sigel), FontisMedia S.A. and Marcel Dekker, Inc., New York, **2004**, pp. 39.
- [12] R. E. Sievers, *Nuclear Magnetic Resonance Shift Reagents*, Sievers, R. E. ed., Academic Press, New York, **1973**.
- [13] S. J. Weissman, *J. Chem. Phys.* **1942**, 10, 214.
- [14] W. M. Faustino, G. B. Rocha, F. R. Gonçalves e Silva, O. L. Malta, G. F. de Sá, A. M. Simas, *Journal of Molecular Structure (Tetrahedron)* **2000**, 527, 245.
- [15] G. A. Crosby, R. E. Whan, R. M. Alire, *J. Chem. Phys.* **1961**, 34, 743.
- [16] D. L. Dexter, *J. Chem. Phys.* **1953**, 21, 836.
- [17] T. Förster, *Ann. Phys. (Leipzig)* **1948**, 2, 55.

I. Introduction

- [18] N. Filipescu, W. F. Sager, F. A. Serafin, *J. Phys. Chem.* **1964**, 68, 3324.
- [19] L. R. Melby, N. J. Rose, E. Abramson, J. C. Caris, *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, 86, 5117.
- [20] J.-C. G. Bünzli, *Lanthanide Probes in Life, Chemical and Earth Sciences. Theory and Practice*, J.-C. G. Bünzli and G. R. Choppin, Eds. ed., Elsevier Science Publ. B.V., Amsterdam, **1989**.
- [21] H. Bauer, J. Blanc, D. L. Ross, *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, 86, 5125.
- [22] D. G. Karraker, *Inorg. Chem.* **1967**, 6, 1863.
- [23] M. L. Bhaumik, L. J. Nugent, *J. Phys. Chem.* **1965**, 43, 1680.
- [24] S. Sato, M. Wada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1970**, 43, 1955.
- [25] H. Winston, O. J. Marsh, C. K. Suzuki, C. L. Telk, *J. Chem. Phys.* **1963**, 39, 267.
- [26] F. J. Steemers, W. Verboom, D. N. Reinhoudt, E. B. van der Tol, J. W. Verhoeven, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 9408.
- [27] M. Latva, H. Takalo, V. M. Mikkala, C. Matachescu, J.-C. Rodriguez-Ubis, J. Kankare, *J. Luminesc.* **1997**, 75, 149.
- [28] H. G. Brittain, R. I. Fineman, *Inorganica Chimica Acta* **1984**, 95, 225.
- [29] H. G. Brittain, *Inorg. Chem.* **1980**, 19, 3473.
- [30] H. G. Brittain, *Inorg. Chem.* **1980**, 19, 640.
- [31] H. Tsukube, S. Shinoda, J. Uenishi, T. Kanatani, H. Itoh, M. Shiode, T. Iwachido, O. Yonemitsu, *Inorg. Chem.* **1998**, 37, 1585.
- [32] V. E. Karasev, A. G. Mirochnik, R. N. Shchelokov, *Russ. J. Inorg. Chem.* **1984**, 29, 395.
- [33] H. J. Batista, A. V. M. de Andrade, R. L. Longo, A. M. Simas, G. F. de Sa, N. K. Ito, L. C. Thompson, *Inorg. Chem.* **1998**, 37, 3542.
- [34] J.-C. G. Bünzli, et al., *J. Alloys and Compounds* **1994**, 207/208, 107.
- [35] S. T. Frey, M. L. Gong, W. d. W. Horrocks, *Inorg. Chem.* **1994**, 33, 3229.
- [36] R. C. Holz, L. C. Thompson, *Inorg. Chem.* **1993**, 32, 5251.
- [37] G. E. Buono-Core, H. Li, B. Marciniak, *Coord. Chem. Rev.* **1990**, 99, 55.
- [38] J. Erostyak, A. Buzady, L. Kozma, I. Hornyak, *Spectroscopy Letters* **1995**, 28, 473.
- [39] W. Dong, C. D. Flint, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.* **1992**, 88, 3435.

Références

- [40] J.-A. Yu, R. B. Lessart, L. E. Bowman, D. G. Nocera, *Chem. Phys. Letters* **1991**, 187, 263.
- [41] H. F. Brito, O. L. Malta, C. A. A. de Carvalho, J. F. S. Menezes, L. R. Souza, R. Ferraz, *J. Alloys and Compounds* **1998**, 277, 254.
- [42] J.-C. G. Bünzli, in *Spectroscopic Properties of Rare Earths in Optical Materials* (Eds.: G. K. Liu, B. Jacquier), Springer-Verlag, in press, **2004**, pp. 458.
- [43] G. Zucchi, Thèse de doctorat, Université de Lausanne **2000**.
- [44] J.-C. G. Bünzli, C. Piguet, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 1897.
- [45] J.-C. G. Bünzli, N. André, M. Elhabiri, G. Muller, C. Piguet, *J. Alloys Comp.* **2000**, 303-304, 66.
- [46] C. Piguet, J.-C. G. Bünzli, *Chem. Soc. Rev.* **1999**, 28, 347.
- [47] J. E. Richman, T. J. Atkins, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, 96, 2268.
- [48] J. E. Richman, T. J. Atkins, W. F. Oettle, *Org. Synth.* **1978**, 58, 86.
- [49] P.-A. Pittet, D. Früh, V. Tissières, J.-C. G. Bünzli, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1997**, 895.
- [50] R. W. Sandnes, M. Gacek, K. Undheim, *Acta Chemica Scandinavica* **1998**, 52, 1402.
- [51] G. Hervé, H. Bernard, N. Le Bris, M. Le Baccon, J.-J. Yaouanc, H. Handel, *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 2517.
- [52] G. Hervé, H. Bernard, N. Le Bris, J.-J. Yaouanc, H. Handel, L. Toupet, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 6861.
- [53] M. Ferrari, G. B. Giovenzana, G. Palmisano, M. Sisti, *Synthetic Communications* **2000**, 30, 15.
- [54] P. S. Athey, G. E. Kiefer, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 4081.
- [55] D. Parker, R. S. Dickins, H. Puschmann, C. Crossland, J. A. K. Howard, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 1977.
- [56] M. Woods, S. Aime, M. Botta, J. A. K. Howard, J. M. Moloney, M. Navet, D. Parker, M. Port, O. Rousseaux, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 9781.
- [57] R. S. Dickins, J. A. K. Howard, C. L. Maupin, J. M. Moloney, D. Parker, J. P. Riehl, G. Siligardi, J. A. G. Williams, *Chem. Eur. J.* **1999**, 5, 1095.
- [58] D. Parker, J. A. G. Williams, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1996**, 3613.

I. Introduction

- [59] J. H. Forsberg, R. M. Delaney, Q. Zhao, G. Harakas, R. Chandran, *Inorg. Chem.* **1995**, *34*, 3705.
- [60] G. Zucchi, R. Scopelliti, J.-C. G. Bünzli, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2001**, 1975.
- [61] L. Di Bari, G. Pintacuda, P. Salvadori, R. S. Dickins, D. Parker, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9257.
- [62] C. L. Maupin, D. Parker, J. A. G. Williams, J. P. Riehl, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 10563.
- [63] T. Gunnlaugsson, D. Parker, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1998**, 511.
- [64] R. S. Dickins, J. A. K. Howard, C. W. Lehmann, J. Moloney, D. Parker, R. D. Peacock, *Angew. Chem. Intl. Ed. Engl.* **1997**, *38*, 521.
- [65] X. Li, S. Zhang, P. Zhao, Z. Kovacs, A. D. Sherry, *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 6572.
- [66] S. Zhang, K. Wu, M. C. Biewer, A. D. Sherry, *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 4284.
- [67] A. D. Sherry, *J. All. Comp.* **1997**, *249*, 153.
- [68] A. Dadabhoy, S. Faulkner, P. G. Sammes, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2000**, 2359.
- [69] A. Dadabhoy, S. Faulkner, P. G. Sammes, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2002**, 348.
- [70] S. Aime, M. Botta, R. S. Dickins, C. L. Maupin, D. Parker, J. P. Riehl, J. A. G. Williams, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1998**, 881.
- [71] A. Beeby, I. M. Clarkson, R. S. Dickins, S. Faulkner, D. Parker, L. Royle, A. S. de Sousa, J. A. G. Williams, M. Woods, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1999**, 493.
- [72] D. Parker, J. A. G. Williams, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1995**, 1305.
- [73] G. Bobba, S. D. Kean, D. Parker, A. Beeby, G. Baker, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2001**, 1738.
- [74] G. Bobba, R. S. Dickins, S. D. Kean, C. E. Mathieu, D. Parker, R. D. Peacock, G. Siligardi, M. J. Smith, J. A. G. Williams, C. F. G. C. Geraldès, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2001**, 1729.
- [75] S. Amin, D. A. Voss, W. d. W. Horrocks Jr., J. R. Morrow, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 7466.

Références

- [76] L. Alderighi, A. Bianchi, L. Calabi, P. Dapporto, C. Giorgi, P. Losi, L. Paleari, P. Paoli, P. Rossi, B. Valtancoli, M. Virtuani, *Eur. J. Inorg. Chem.* **1998**, 1581.
- [77] I. Hemmilä, R. Harju, in *Bioanalytical Applications of Labelling Technologies (2nd edition)* (Eds.: I. Hemmilä, T. Ståhlberg, P. Mottram), Wallac Oy, Turku, Finland, **1995**, p. 83.
- [78] R. A. Bulman, in *Metal Ions in Biological Systems, Vol. 40* (Eds.: A. Sigel, H. Sigel), FontisMedia S.A. and Marcel Dekker, Inc., New York, **2003**, pp. 683.
- [79] A. Mayer, S. Neuenhofer, *Angew. Chem. Intl. Ed. Eng.* **1994**, 33, 1044.
- [80] N. Weibel, L. J. Charbonnière, M. Guardigli, A. Roda, R. Ziessel, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 4888.
- [81] L. Huang, L. L. Chappell, O. Iranzo, B. F. Baker, J. R. Morrow, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2000**, 5, 85.
- [82] L. L. Chappell, B. E. Rogers, M. B. Khazaeli, M. S. Mayo, D. J. Buchsbaum, M. W. Brechbiel, *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, 7, 2313.
- [83] K. Matsumoto, T. Nojima, H. Sano, K. Majima, *Macromol. Symp.* **2002**, 186, 117.
- [84] H. H. Shi, Y. S. Yang, *J. All. Comp.* **1994**, 207/208, 29.
- [85] D. Parker, *Coord. Chem. Rev.* **2000**, 205, 109.
- [86] T. Gunnlaugsson, A. J. Harte, J. P. Leonard, M. Nieuwenhuizen, *Chem. Commun.* **2002**, 2134.
- [87] R. S. Dickins, S. Aime, A. S. Batsanov, A. Beeby, M. Botta, J. I. Bruce, J. A. K. Howard, C. S. Love, D. Parker, R. D. Peacock, H. Puschmann, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 12697.
- [88] C. M. Rudzinski, W. K. Hartmann, D. G. Nocera, *Coord. Chem. Rev.* **1998**, 171, 115.
- [89] P. J. Skinner, A. Beeby, R. S. Dickins, D. Parker, S. Aime, M. Botta, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2000**, 1329.
- [90] M. P. Lowe, D. Parker, O. Reany, S. Aime, M. Botta, G. Castellano, E. Gianolio, R. Pagliarin, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 7601.
- [91] I. Hemmilä, S. Webb, *Drug Discovery Today* **1997**, 2, 373.
- [92] I. Hemmilä, *J. Alloys & compounds* **1995**, 225, 480.

I. Introduction

- [93] E. Reichstein, Y. Shami, M. Ramjeesingh, E. P. Diamandis, *Anal. Chem.* **1988**, *60*, 1069.
- [94] E. F. Ulman, M. Schwarzberg, K. E. Rubenstein, *J. Biol. Chem.* **1976**, *251*, 4172.
- [95] P. R. Selvin, *Methods in Enzym.* **1995**, *246*, 300.
- [96] R. P. Haugland, in *Molecular Probes: Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals*, 6th Edn., Eugene, OR Molecular Probes, Inc., **1998**.
- [97] E. P. Diamandis, *Clin. Biochem.* **1988**, *21*, 139.
- [98] G. Mathis, *Clin. Chem.* **1993**, *39*, 1953.
- [99] G. Mathis, *Clin. Chem.* **1995**, *41*, 1391.
- [100] P. R. Selvin, J. E. Hearst, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 10024.
- [101] A. Dietrich, V. Buschmann, C. Müller, M. Sauer, *Reviews in molecular biotechnology* **2002**, *82*, 211.
- [102] P. R. Selvin, T. M. Rana, J. E. Hearst, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6029.
- [103] S. Sueda, J. Yuan, K. Matsumoto, *Bioconjugate Chem.* **2000**, *11*, 827.
- [104] I. Hemmilä, S. Holttinen, K. Pettersson, T. Lövgren, *Clin. Chem.* **1987**, *32*, 2281.
- [105] J. Vuori, S. Rasi, T. Takala, K. Väänänen, *Clin. Chem.* **1991**, *37*, 2087.
- [106] K. Pettersson, H. Alftan, U.-H. Stenman, U. Turpeinen, M. Suonpää, J. Söderholm, S. O. Larsen, B. Norgaard-Pedersen, *Clin. Chem.* **1993**, *39*, 2084.
- [107] Q. Qin, M. Christiansen, T. Lövgren, B. Norgaard-Pedersen, K. Pettersson, *J. Immunol. Methods* **1997**, *205*, 169.
- [108] L. Meriö, K. Pettersson, T. Lövgren, *Clin. Chem.* **1996**, *42*, 1513.
- [109] S. Eriksson, M. Vehniäinen, T. Jansen, V. Meretoja, P. Saviranta, K. Pettersson, T. Lövgren, *Clin. Chem.* **2000**, *46*, 658.
- [110] Y.-Y. Xu, K. Pettersson, K. Blomberg, I. Hemmilä, H. Mikola, T. Lövgren, *Clin. Chem.* **1992**, *38*, 2038.
- [111] A. Beeby, S. Faulkner, D. Parker, J. A. Williams, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2001**, 1268.
- [112] G. Zucchi, A.-C. Ferrand, R. Scopelliti, J.-C. G. Bünzli, *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 2459.

II. Compléments de l'étude photophysique en solution des complexes contenant les ligands L¹ et L²

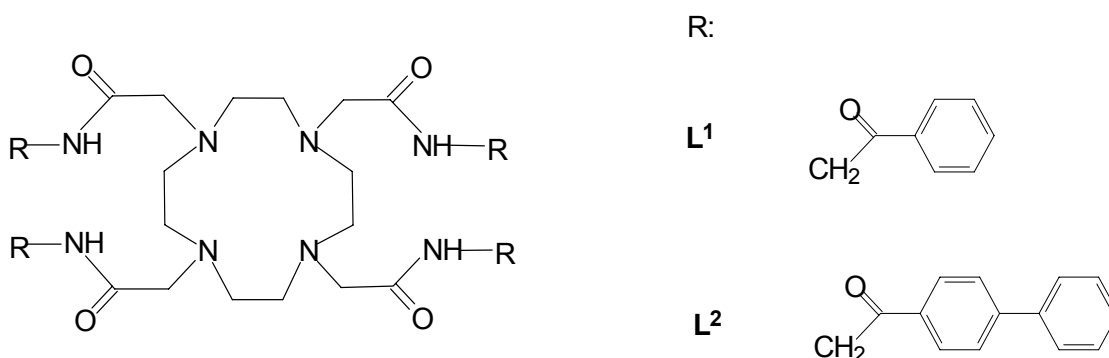


Figure 2.1: schéma des ligands L¹ et L².

G. Zucchi a mis au point la synthèse des ligands L¹ et L² (Figure 2.1) et de leurs complexes de lanthanides. ^[1] Il a également étudié leurs propriétés structurales à l'état solide et en solution.

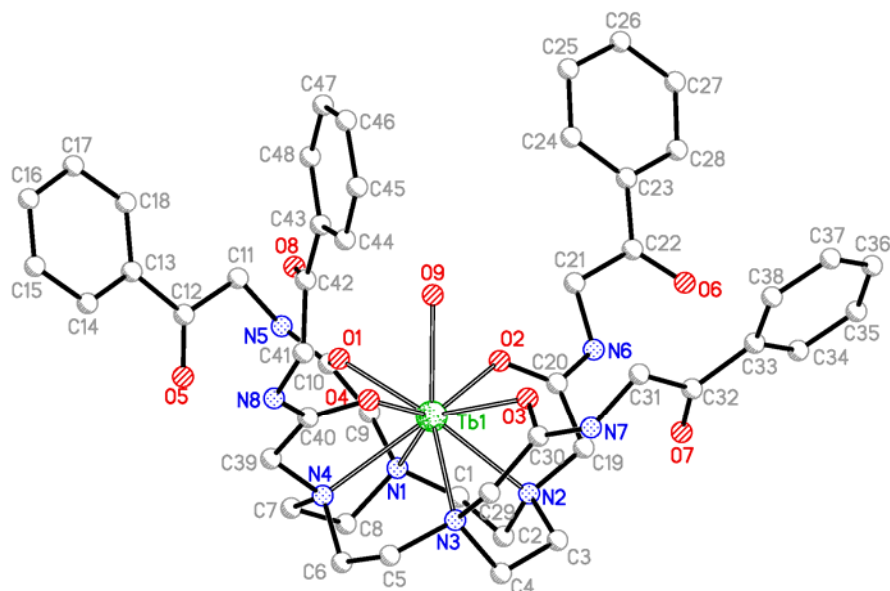


Figure 2.2 : Structure moléculaire du complexe [Tb(L¹)(H₂O)]³⁺ et numérotation des atomes. ^[1]

III. Synthèse du ligand L^3

La structure aux rayons X du complexe TbL^1 recristallisé dans l'eau (Figure 2.2) indique que l'ion $Tb(III)$ est nonacoordiné. Les quatre atomes d'azote du cycle (N1 à N4) et les quatre atomes d'oxygène des fonctions amide (O1 à O4), qui lui sont coordonnés, forment deux plans quasi-parallèles entre lesquels est placé l'ion $Tb(III)$. Une molécule d'eau complète la sphère de coordination, les contre-ions sont placés à l'extérieur de cette même sphère. La conformation du ligand dans le complexe est de type $\Delta(\lambda\lambda\lambda\lambda)$.

L'étude par RMN 1H d'une solution de ligand L^1 a mis en évidence l'existence d'un échange entre deux formes diastéréoisomères du ligand, et celle du complexe EuL^1 a seulement permis d'affirmer que ce même échange au sein du complexe est plus rapide, mais non exploitable à l'échelle de temps de la RMN.

G. Zucchi a également réalisé une étude photophysique, à savoir la détermination des caractéristiques d'absorption et des positions énergétiques des états excités dans les ligands libres et complexés, **les rendements quantiques des complexes**, la durée de vie des états excités des ions métalliques, et leurs nombres d'hydratation. La luminescence haute résolution des composés à l'état solide a permis de déterminer la symétrie du site de l'ion $Eu(III)$ et son nombre de coordination dans les complexes.

Concernant les rendements quantiques en solution, G. Zucchi a déterminé ceux des complexes TbL^1 , EuL^1 , SmL^1 , DyL^1 , EuL^2 et SmL^2 dans certaines conditions expérimentales.^[1] De telles données ont leur intérêt pour des applications biologiques, comme le dosage de matériel biologique pour les complexes de terbium et d'euporium et les dosages fluoroimmunologiques pour les complexes de dysprosium et de samarium.

Afin d'étendre les résultats obtenus par G. Zucchi sur les rendements quantiques de ses complexes, nous avons effectué des mesures en utilisant deux références organiques au lieu d'une, et nous nous sommes en outre intéressés à les mesurer selon des longueurs d'onde d'excitation supplémentaires.

Ainsi, les rendements quantiques absolus des complexes EuL^1 et EuL^2 ont été déterminés par rapport à deux molécules organiques qui sont la rhodamine 101 et le violet de crésyle. Elles ont été choisies car elles absorbent et émettent la lumière dans le même domaine de

longueur d'onde que l'ion Eu(III) (figure 2.2). Les complexes EuL^1 et EuL^2 ont ensuite été utilisés comme références pour les mesures des rendements quantiques des complexes SmL^1 et SmL^2 .

Le rendement quantique absolu du complexe TbL^1 dans l'eau non dégazée a été déterminé par rapport au sulfate de quinine et celui du complexe DyL^1 par rapport à cette même substance et au 9,10-diphénylanthracène. Des mesures supplémentaires, établissant le rendement quantique du complexe DyL^1 selon le complexe TbL^1 , ont permis d'une part de valider la valeur du rendement quantique absolu de TbL^1 , et d'autre part de déduire que le complexe TbL^1 est une bonne référence pour la détermination des rendements quantiques absolus d'autres complexes.

La figure 2.3 représente les spectres d'absorption et d'émission des complexes et de leurs références.

III. Synthèse du ligand L^3

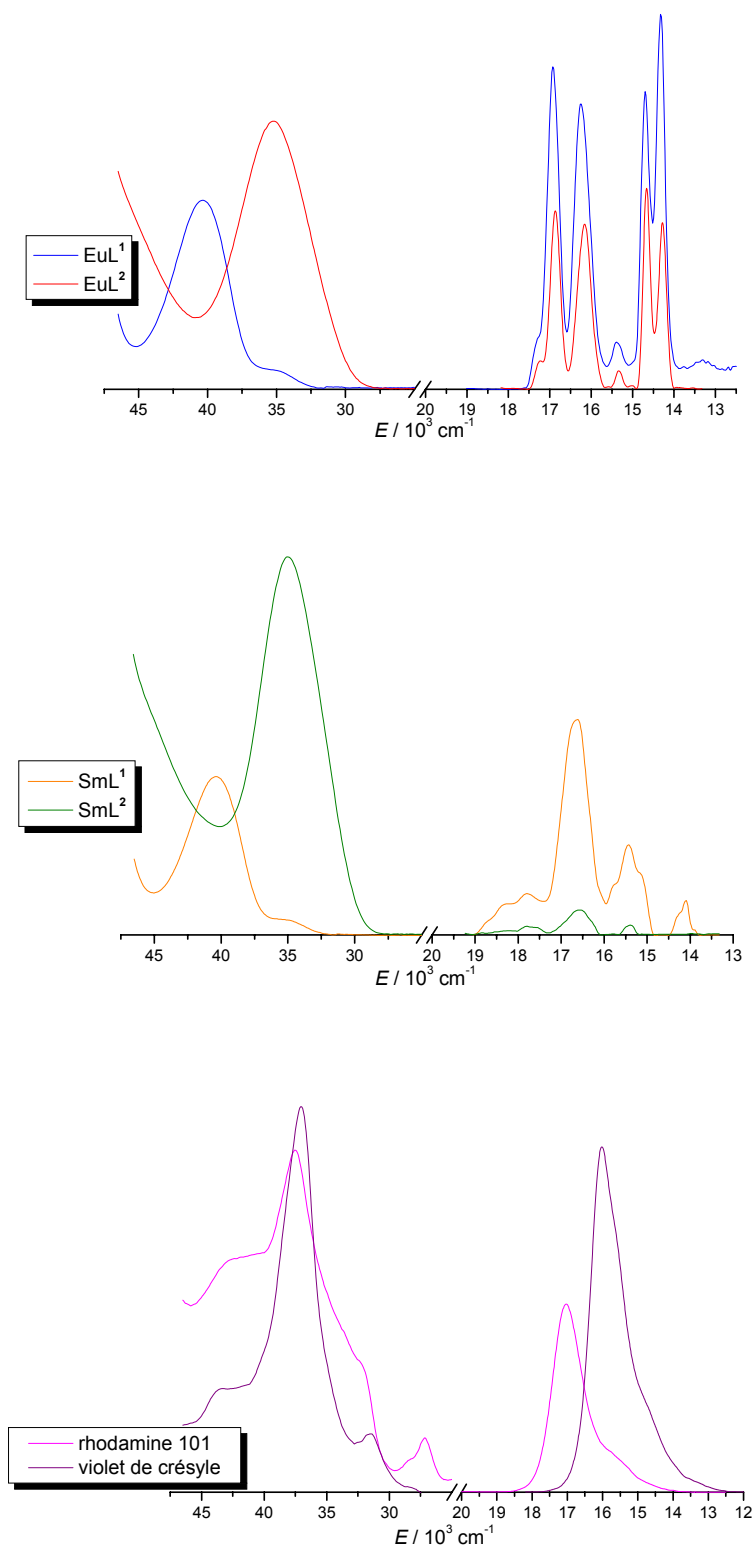
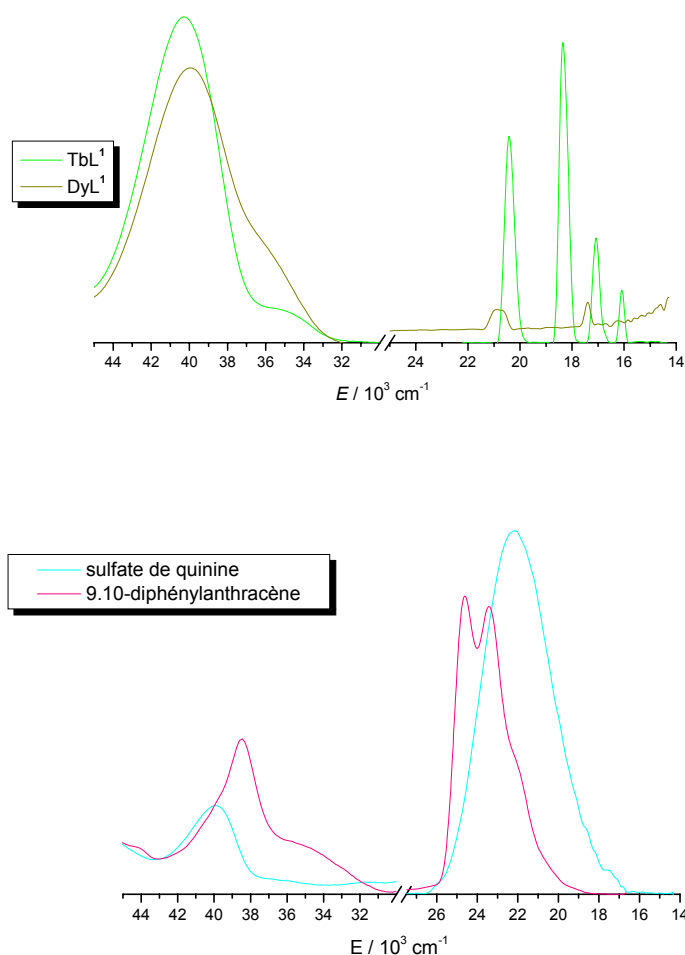


Figure 2.2: spectres d'absorption et d'émission des complexes EuL^1 , EuL^2 , SmL^1 , SmL^2 et de leurs références.



Error! Objects cannot be created from editing field codes.Figure 2.3: Spectres d'absorption et d'émission des complexes TbL¹, DyL¹ et de leurs références.

EuL¹ par rapport à la rhodamine 101 et au violet de crésyle

Le tableau 2.1 indique les valeurs des rendements quantiques du complexe EuL¹ selon deux références organiques et trois énergies d'excitation différentes. Les valeurs, pour une énergie d'excitation donnée et par rapport aux deux références, se tiennent. On remarque d'autre part que plus l'énergie d'excitation diminue, et plus l'écart entre les

III. Synthèse du ligand L^3

deux valeurs se creuse. Ceci est en partie du au fait qu'à $40\,320\text{ cm}^{-1}$, le complexe est à son maximum d'absorption, et qu'à $34\,720\text{ cm}^{-1}$, son absorption est assez faible, rendant les mesures, et d'absorption, et de luminescence, moins précises.

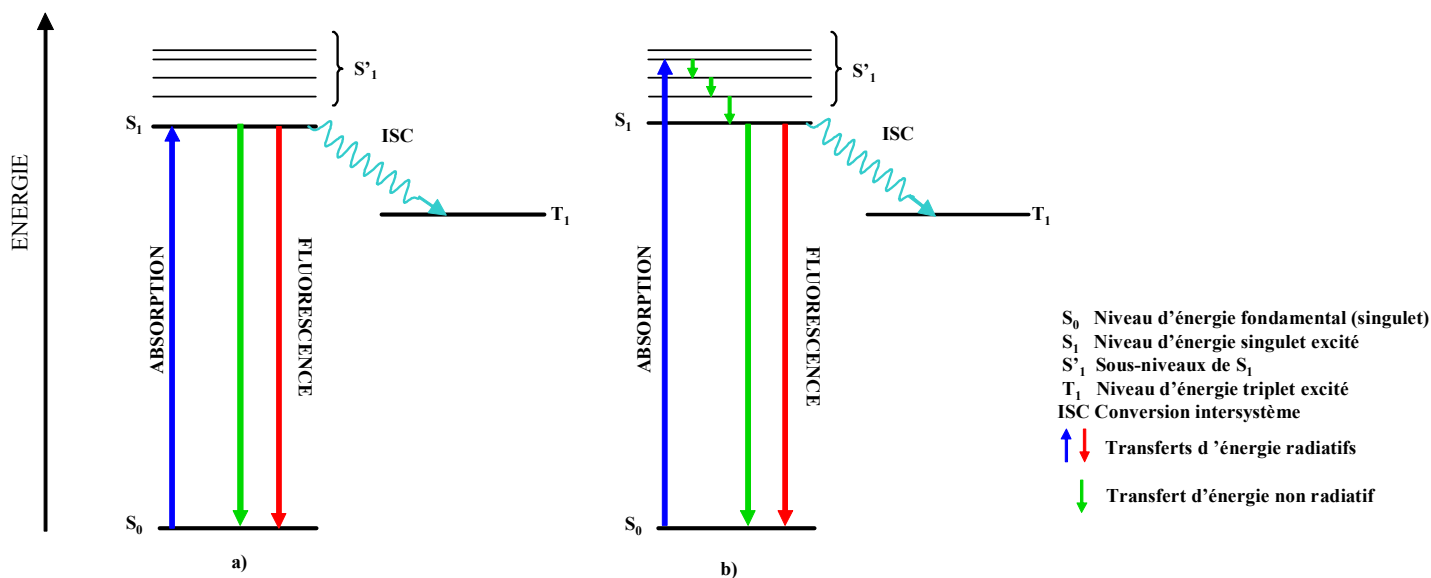
Tableau 2.1: Rendements quantiques absolus du complexe $\text{Eu}L^1$ par rapport au violet de crésyle et à la rhodamine 101, rendement quantique du violet de crésyle calculé à partir des données expérimentales par rapport à la rhodamine 101, et erreur sur la valeur tabulée.

E_{exc} / cm^{-1} Références	40 320 (248 nm)	37 740 (265 nm)	34 720 (288 nm)
Violet de crésyle	2.9 %	2.8 %	6.4 %
Rhodamine 101	2.9 %	2.7 %	5.2 %
Rendement quantique du violet de crésyle recalculé	55.0 %	56.4 %	43.6 %
Erreur absolue sur la valeur tabulée	+ 1.0 %	+ 2.4 %	- 11.4 %
Erreur relative sur la valeur tabulée	+ 1.8 %	+ 4.4 %	- 19.2 %

On peut également remarquer que la valeur du rendement quantique augmente quand l'énergie d'excitation de la molécule diminue. Ceci peut être expliqué par une meilleure efficacité du transfert d'énergie intramoléculaire. En effet, il s'opère une perte d'énergie non radiative lorsque le niveau singulet du ligand est excité à un sous-niveau de cet état plus élevé en énergie, et que celui-ci se désexcite en passant par divers sous-niveaux intermédiaires avant d'atteindre le sous-niveau de l'état singulet le plus bas en énergie (Figure 2.4), pour ensuite accéder à l'état triplet ou à l'état fondamental.

Le rendement quantique absolu « expérimental » du violet de crésyle a été calculé pour chaque mesure effectuée. Pour se faire, nous avons considéré que la rhodamine 101 était la référence (rendement quantique absolu de 100 %). Nous avons ensuite déterminé l'erreur sur le rendement quantique absolu « expérimental » du violet de crésyle par rapport à sa valeur tabulée (54.0 %). L'erreur relative, ici, ne dépasse pas 20 % pour les

trois énergies d'excitation, valeur de l'erreur que nous estimons comme étant une limite supérieure au vu des conditions de mesure.



EuL² par rapport à la rhodamine 101 et au violet de crésyle.

Le tableau 2.2 indique les valeurs des rendements quantiques absolus du complexe EuL². Cette fois-ci, le maximum d'absorption du complexe est à 34 720 cm⁻¹, et 40 320 cm⁻¹ correspond à une absorption faible (voir Figure 2.2), où les mesures sont moins précises. Ainsi, on constate que l'écart entre deux valeurs (l'une par rapport au violet de crésyle et l'autre par rapport à la rhodamine 101) pour une même énergie d'excitation augmente avec cette énergie. D'autre part et pour les mêmes raisons que pour EuL¹, la valeur du rendement quantique augmente quand l'énergie d'excitation de la molécule diminue. L'erreur sur la valeur recalculée du rendement quantique du violet de crésyle est toujours largement inférieure à 20 %.

III. Synthèse du ligand L^3

Tableau 2.2: Rendements quantiques absolus du complexe EuL^2 par rapport au violet de crésyle et à la rhodamine 101, rendement quantique du violet de crésyle calculé à partir des données expérimentales par rapport à la rhodamine 101, et erreur sur la valeur tabulée.

E_{exc} / cm^{-1} Références	40 320 (248 nm)	37 740 (265 nm)	34 720 (288 nm)
Violet de crésyle	8.4 %	16.7 %	26.2 %
Rhodamine 101	12.8 %	18.9 %	23.2 %
Rendement quantique du violet de crésyle recalculé	47.0 %	60.8 %	48.4 %
Erreur absolue sur la valeur tabulée	-7.0 %	+6.8 %	-5.6 %
Erreur relative sur la valeur tabulée	-13.0 %	+12.6 %	-10.4 %

G. Zucchi avait obtenu 11.4 % comme valeur de rendement quantique absolu pour le complexe EuL^2 à $35\,587 \text{ cm}^{-1}$ (281 nm), dans l'eau non dégazée, et par rapport au sulfate de quinine.^[1] Comme nos mesures ont été réalisées par rapport à deux références, cela nous permet de relativiser leur erreur, ce qui n'est pas le cas pour celles effectuées par G. Zucchi.

Tableau 2.3: Rendements quantiques absolus du complexe EuL^2 dans l'acétonitrile.^[2]

Référence	E_{exc} / cm^{-1}	Rendement quantique	Absorbance
Rhodamine 101	36 231 (276 nm)	5.2 %	0.15
Rhodamine 101	35 971 (278 nm)	6.5 %	0.085
Rhodamine 101	33 784 (296 nm)	5.6 %	0.07
Rhodamine 101	33 557 (298 nm)	4.4 %	0.12
Violet de crésyle	35 211 (284 nm)	7.8 %	0.08
Violet de crésyle	33 333 (300 nm)	7.6 %	0.06

Par ailleurs, le Dr. A. Dadabhoy a déterminé le rendement quantique du complexe EuL^2 dans l'acétonitrile non dégazé, par rapport au violet de crésyle et à la rhodamine 101.^[2]

Elle a obtenu les valeurs indiquées dans le tableau 2.3. Curieusement, celles-ci sont inférieures à celles obtenues dans l'eau (tableau 2.4) alors que la tendance inverse est habituellement observée, les molécules d'eau étant des inhibiteurs de luminescence plus efficaces que celles d'acétonitrile.

Le tableau 2.4 reprend les résultats décrits précédemment.

Tableau 2.4: Rendements quantiques absolus des complexes EuL^1 et EuL^2 dans l'eau non dégazée.

	E_{exc} / cm^{-1}	Violet de crésyle	Rhodamine 101	Moyenne
EuL^1	40 320 (248 nm)	2.9 %	2.9 %	2.9 ± 0.01 %
	37 740 (265 nm)	2.8 %	2.7 %	2.7 ± 0.07 %
	34 720 (288 nm)	6.4 %	5.2 %	5.8 ± 0.7 %
EuL^2	40 320 (248 nm)	8.4 %	12.8 %	10.6 ± 2.2 %
	37 740 (265 nm)	16.7 %	18.9 %	17.8 ± 1.1 %
	34 720 (288 nm)	26.2 %	23.2 %	24.7 ± 1.5 %

On peut noter d'une manière générale que, pour une énergie d'excitation donnée, le rendement quantique du complexe EuL^2 est, respectivement, 3.5 fois, 6.6 fois et 4.3 fois plus grand que celui du complexe EuL^1 . Ceci peut s'expliquer par le fait que la conjugaison des groupements phényle augmentant au sein du ligand L^2 , elle provoque un abaissement de ses niveaux énergétiques. Ces derniers étant plus proches de ceux de l'ion Eu(III) , il s'opère ainsi un meilleur transfert du ligand vers l'ion Eu(III) .

SmL^1 par rapport à EuL^1

Nous avons choisi le complexe EuL^1 comme référence pour la détermination des rendements quantiques du complexe SmL^1 pour des raisons de praticité dans les mesures.

III. Synthèse du ligand L^3

Les deux complexes ont un comportement en absorbance identique, il est donc aisé de se placer au maximum d'absorption des deux entités, ce qui améliore la précision du résultat. De plus, toutes les autres références ont une émission beaucoup plus intense que ce complexe peu luminescent (tableau 2.5). Le complexe EuL^1 est moyennement luminescent, ce qui permet de régler plus facilement les conditions de mesures sur le spectromètre (largeur de fentes) de façon à ce qu'elles soient identiques pour les deux espèces.

Tableau 2.5: Rendements quantiques du complexe SmL^1 par rapport au complexe EuL^1 .

E_{exc} / cm^{-1}	40 320 (248 nm)	37 740 (265 nm)	34 720 (288 nm)
EuL^1	0.16 %	0.19 %	0.37 %

SmL^2 par rapport à EuL^1 et EuL^2

Concernant la valeur du rendement quantique du complexe SmL^2 à $34\,720\text{ cm}^{-1}$, l'écart entre les deux mesures est grand (20%), et l'on doit donc considérer la valeur estimée par rapport au complexe EuL^1 avec une grande prudence puisqu'à cette longueur d'onde, l'absorption de cette référence est très faible.

Tableau 2.6: Rendements quantiques du complexe SmL^2 par rapport aux complexes EuL^1 et EuL^2 .

E_{exc} / cm^{-1}	40 320 (248 nm)	37 740 (265 nm)	34 720 (288 nm)
EuL^1	0.48 %	0.59 %	(0.58 %)
EuL^2			0.70 %

On peut observer que, pour une même énergie d'excitation, la valeur des rendements quantiques du complexe SmL^2 est plus importante que celle du complexe SmL^1 . Cette

différence est due à la même raison que pour les complexes EuL^1 et EuL^2 étudiés précédemment, à savoir que la conjugaison des groupements phényle au sein du ligand L^2 abaisse ses niveaux énergétiques, favorisant ainsi un meilleur transfert énergétique du ligand vers l'ion Ln(III) .

Résumé et commentaire additionnel sur les rendements quantiques absolus des complexes EuL^1 , EuL^2 , SmL^1 et SmL^2 .

Tableau 2.7: Rendements quantiques absolus des complexes EuL^1 , EuL^2 , SmL^1 et SmL^2 dans l'eau non dégazée.

$E_{exc} / \text{cm}^{-1} (\lambda / \text{nm})$	EuL^1	EuL^2	SmL^1	SmL^2
40 320 (248 nm)	2.9 %	10.6 %	0.16 %	0.48 %
37 740 (265 nm)	2.7 %	17.8 %	0.19 %	0.59 %
34 720 (288 nm)	5.8 %	24.7 %	0.37 %	0.70 %

D'après les données résumées dans le tableau 2.7, le complexe EuL^1 a, en moyenne, un rendement quantique absolu 16 fois plus élevé que le complexe SmL^1 , et celui du complexe EuL^2 est 30 fois plus élevé que celui de SmL^2 .

Ceci est contradictoire avec le fait que la différence d'énergie entre le niveau triplet du ligand et le niveau accepteur de l'ion Sm(III) (ΔE_2) est plus faible qu'avec celui de l'ion Eu(III) (ΔE_1), favorisant ainsi un meilleur transfert au sein du complexe SmL^1 (figure 2.5).

Par contre, une majeure partie de l'énergie est ensuite dissipée par désexcitation non radiative lors de la désexcitation des niveaux de l'ion Sm(III) . En effet, la faible différence d'énergie entre les niveaux $^5\text{G}_{5/2}$ et $^6\text{F}_{11/2}$ (7400 cm^{-1}) favorise l'influence des oscillateurs, O-H notamment, présents dans le solvant et qui, par leurs interactions vibroniques, inhibent la luminescence de l'ion Sm(III) ^[3]. En ce qui concerne l'ion Eu(III) , la différence d'énergie entre les niveaux $^5\text{D}_0$ et $^7\text{F}_6$ est plus importante, diminuant

III. Synthèse du ligand L^3

ainsi l'effet du solvant. Donc, même si plus d'énergie est transmise sur l'ion Sm(III) que sur l'ion Eu(III), celle-ci est ensuite perdue par désexcitation non radiative au sein des niveaux de l'ion Sm(III), alors qu'elle est émise sous forme de lumière par l'ion Eu(III) lorsqu'il se désexcite.

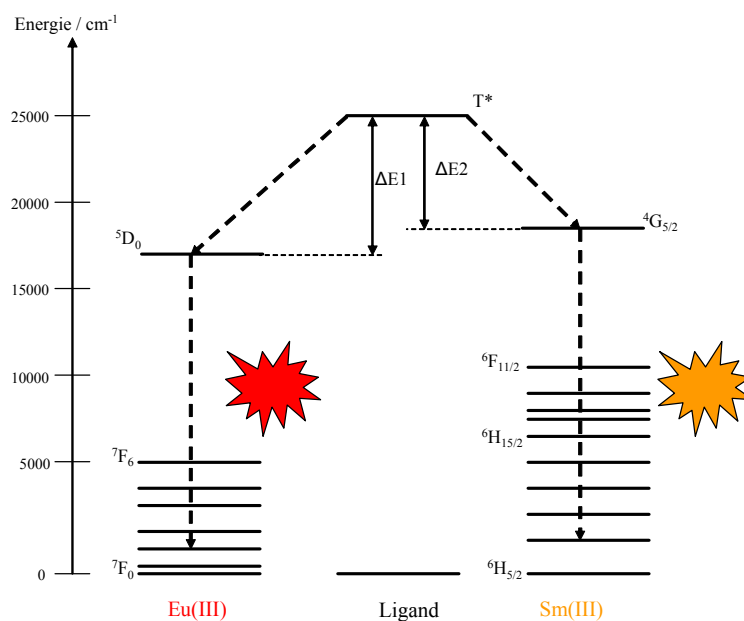


Figure 2.5: Transfert énergétique du niveau triplet du ligand L^1 vers les niveaux accepteurs des ions $Eu(III)$ et $Sm(III)$.

TbL^1 par rapport au sulfate de quinine

Tableau 2.8: Rendements quantiques du complexe TbL^1 par rapport au sulfate de quinine.

E_{exc} / cm^{-1}	42 017 (238 nm)	40 320 (248 nm)	38 760 (258 nm)
Sulfate de quinine	24.5 %	23.1 %	22.6 %

Les valeurs des rendements quantiques absolus du complexe TbL^1 sont très élevées pour une molécule appartenant aux dérivés du cyclène. Elles sont significatives d'un excellent transfert d'énergie intramoléculaire et prometteuses quant à l'application possible de ce complexe dans le dosage de matériel biologique.

Ces valeurs évoluent peu en fonction de l'énergie d'excitation, contrairement aux espèces mesurées précédemment. Pour vérifier ces mesures, il aurait fallu déterminer les rendements quantiques du complexe TbL^1 en fonction d'une seconde référence organique, telle que le 9,10-diphénylanthracène.

Le Dr. A. Dadabhoy a également déterminé le rendement quantique du complexe par rapport au sulfate de quinine, dans l'eau non dégazée, et à une longueur d'onde d'excitation de $40\,320\text{ cm}^{-1}$ (248 nm). Ses résultats sont très différents des nôtres, puisque la valeur moyenne qu'elle a déterminée est de 4.2 %.^[2] Le pH de nos solutions était de 6.5 alors que celui des solutions de A. Dadabhoy était de 5.8, ce qui influence la composition des solutions (cf. *IV.1 diagramme de distribution des complexes TbL^1 et TbL^3 en fonction du pH*) et peut expliquer une telle différence de valeur du rendement quantique.

DyL¹ par rapport au sulfate de quinine, au 9,10-diphénylanthracène et à **TbL¹**

Tableau 2.9: Rendements quantiques du complexe DyL¹ par rapport au sulfate de quinine, au 9,10-diphénylanthracène et au complexe TbL¹.

E_{exc} / cm^{-1} Références	40 323 (238 nm)	38 461 (258 nm)
Sulfate de quinine	0.08 %	0.06 %
9,10-diphénylanthracène	0.07 %	0.06 %
Rendement quantique du sulfate de quinine recalculé	44.2 %	52.2 %
Erreur absolue sur la valeur tabulée	-10.4 %	-2.4 %
Erreur relative sur la valeur tabulée	-19.0 %	-4.4 %
TbL¹	0.05 %	0.07 %

III. Synthèse du ligand L^3

De manière similaire au complexe EuL^1 , les rendements quantiques du complexe DyL^1 ont été déterminés par rapport à deux références organiques (tableau 2.9). Le rendement quantique absolu d'une des deux références est ensuite recalculé, pour chaque longueur d'onde d'excitation, afin d'estimer l'erreur expérimentale sur les mesures. Ici, le rendement quantique absolu du sulfate de quinine est recalculé par rapport au 9,10-diphényl anthracène. Les erreurs relatives ne dépassent pas 20 %, valeur de l'erreur maximale que nous estimons au vu des conditions de mesures.

Les valeurs des rendements quantiques absolus du complexe DyL^1 sont en moyenne de 0.07 % à 40 323 cm^{-1} (238 nm) et de 0.06 % à 38 461 cm^{-1} (258 nm). Elles sont environ 500 fois plus faibles que celles du complexe TbL^1 aux mêmes longueurs d'onde. Ceci, en reprenant la même idée que pour le complexe de samarium, est du au fait que la faible différence d'énergie entre les niveaux excités et fondamentaux de l'ion $Dy(III)$ le rend très sensible aux désexcitations non radiatives. En outre, le niveau énergétique 5D_4 de l'ion $Tb(III)$ (environ 20500 cm^{-1}) est de plus faible énergie que le niveau $^4F_{9/2}$ de l'ion $Dy(III)$ (environ 21000 cm^{-1}) et est ainsi plus proche du niveau triplet du ligand, favorisant un meilleur transfert d'énergie entre le ligand et l'ion $Tb(III)$.

Les valeurs des rendements quantiques du complexe DyL^1 mesurées en fonction du complexe TbL^1 sont proches de celles mesurées en fonction des molécules organiques. Il n'est donc pas essentiel que des mesures supplémentaires soient effectuées pour valider les valeurs des rendements quantiques du complexe TbL^1 .

TbL^2 par rapport au sulfate de quinine

Le rendement quantique obtenu, sous excitation à 34 720 cm^{-1} (288 nm), vaut 1.1 %. Cette faible valeur est due à un transfert en retour de l'énergie depuis le niveau 5D_4 de l'ion $Tb(III)$ vers le niveau triplet du ligand.^[1] En effet, la différence entre ces deux niveaux est seulement de 300 cm^{-1} , et l'énergie d'excitation peut migrer en retour sur le ligand, diminuant ainsi de manière significative l'efficacité du transfert d'énergie du ligand vers le métal.

Une étude fut réalisée par G. Zucchi pour déterminer l'occurrence de ce phénomène. La constante de vitesse de désactivation du niveau 5D_4 de l'ion Tb(III) a été mesurée en fonction de la température. Elle est notée k et représente l'inverse du temps de vie du niveau 5D_4 . Lorsque l'on est en présence d'un transfert en retour, k diminue très fortement en fonction de la température, et la détermination de l'énergie d'activation permet de quantifier l'importance du transfert en retour. L'énergie d'activation est déterminée graphiquement, selon une équation du type loi d'Arrhénius :

$$\ln(k - k_0) = A + \frac{E_a}{RT}$$

où k_0 est la constante de désactivation du niveau 5D_4 de l'ion Tb(III) à 30 K et E_a l'énergie d'activation.

L'énergie d'activation déterminée pour le complexe TbL² est de $1689 \pm 70 \text{ cm}^{-1}$.^[1]

Si l'on considère les tableaux 2.7 et 2.10, on remarque que les valeurs des rendements quantiques des complexes TbL¹ et EuL² sont les plus élevées, avec comme valeurs, respectivement 24.5 % et 24.7 %.

Tableau 2.10: Rendements quantiques absolus des complexes TbL¹, DyL¹ et TbL².

$E_{exc} / \text{cm}^{-1} (\lambda / \text{nm})$	TbL ¹	DyL ¹	TbL ²
42 017 (238 nm)	24.5 %	0.07 %	-
40 320 (248 nm)	23.1 %	-	-
38 760 (258 nm)	22.6 %	0.06 %	-
34 720 (288 nm)	-	-	1.1 %

La figure 2.6 permet une meilleure visualisation des résultats. Le ligand L¹ est donc un très bon sensibilisateur de l'ion Tb(III) et le ligand L² un très bon sensibilisateur de l'ion Eu(III). Ces complexes peuvent entrer dans des applications dans le domaine de la luminescence nécessitant une grande limite de détection, comme le titrage de molécules biologiques. Le ligand L¹ est également un bon sensibilisateur de l'ion Eu(III) alors que le ligand L² en est un très mauvais pour l'ion Tb(III). L'ion Sm(III) est assez bien

III. Synthèse du ligand L^3

sensibilisé par les ligands L^1 et L^2 et ces complexes représentent des candidats potentiels pour une application comme les essais fluoroimmunologiques, alors que l'ion Dy(III) présente un résultat moins intéressant dans l'optique d'une application.

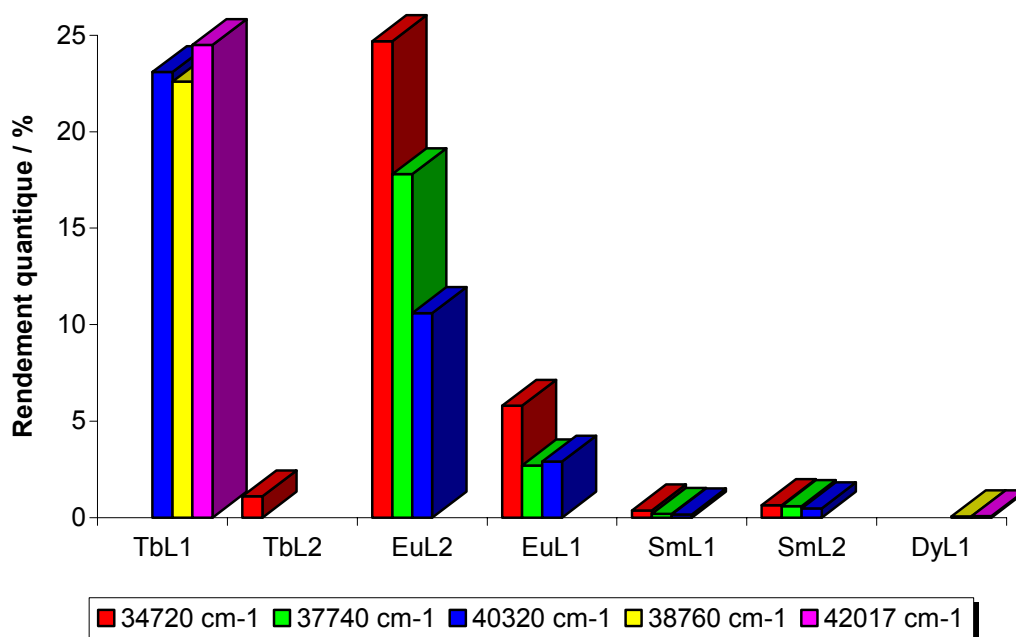


Figure 2.6: Rendements quantiques absolus des complexes en solution.

Références

- [1] G. Zucchi, Thèse de doctorat, Université de Lausanne **2000**.
- [2] A. Dadabhoy, rapport interne, EPFL, Lausanne, **2003**.
- [3] F. R. Gonçalves e Silva, O. L. Malta, C. Reinhard, H.-U. Güdel, C. Piguet, J. E. Moser, J.-C. G. Bünzli, *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 1670.

III. Synthèse du ligand L^3

Au cours du chapitre précédent, nous avons mesuré les rendements quantiques absolus des complexes avec les ligands L^1 et L^2 , et il s'est avéré que les complexes TbL^1 et EuL^2 étaient particulièrement luminescents. Dans le souci de créer des entités ayant un bon potentiel pour des applications biomédicales, nous avons souhaité allier cette qualité à une molécule capable de se greffer sur du matériel biologique. C'est ainsi que nous avons conçu le ligand L^3 (figure 3.1). Sa structure est très proche du ligand L^1 , à la différence qu'un des quatre bras chromophores du cyclène est fonctionnalisé en un bras destiné à attacher l'édifice sur du matériel biologique, via une fonction acide carboxylique. Les fonctions amide ont été conservées sur les quatre bras afin de maintenir une bonne coordination entre le ligand et l'ion $Ln(III)$.

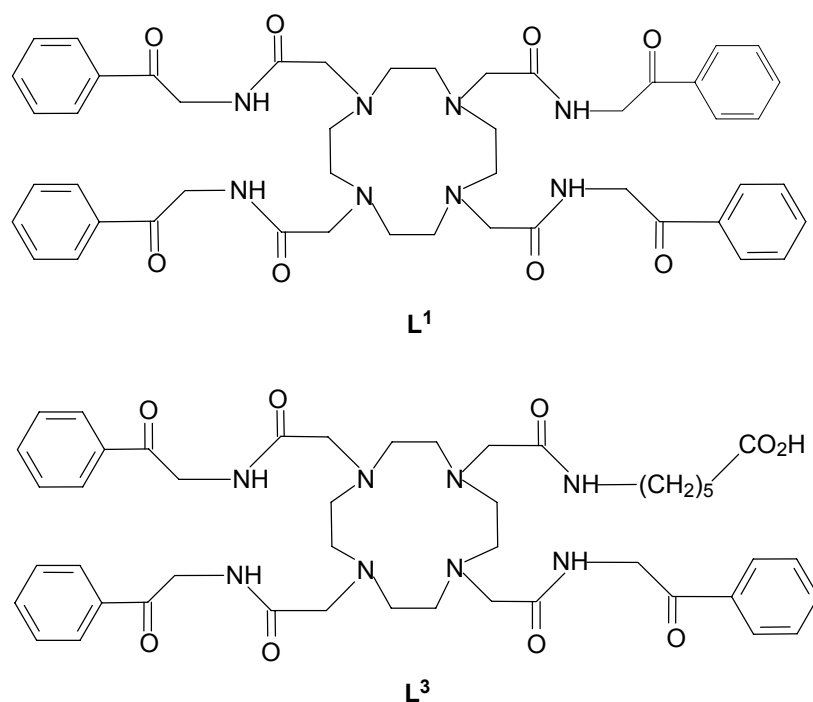


Figure 3.1 : schéma des ligands L^1 et L^3 .

La synthèse d'un tel ligand est plus fastidieuse que celle du ligand L^1 . En effet, il est difficilement réalisable de fonctionnaliser une des quatre fonctions phénacyle du ligand L^1 en une chaîne alkylée portant une fonction acide carboxylique. Il nous a donc fallu

III. Synthèse du ligand L^3

repenser le chemin de synthèse dans son intégralité. Suite à une étude bibliographique, nous nous sommes aperçus qu'il était possible de greffer sur le cyclène des bras de nature différente. Mais cette option apporte des complications de purification à cause de la formation d'espèces secondaires, dont les bras de nature différente se trouvent dans des proportions non souhaitées; par exemple, la formation simultanée du ligand L^3 (trois bras phénacyle et un bras acide) et d'un ligand portant deux bras phénacyle et deux bras acide, ou encore d'un autre ligand portant deux bras phénacyle et un bras acide. C'est ainsi que nous décrivons dans ce chapitre les essais de synthèse que nous avons effectués.

G. Zucchi a développé la synthèse du composé **2** et le Dr. T. Peymann celle décrite dans la partie III.2.

III.1 Synthèse des bras 1 et 2

Le bras **1** est le produit de la réaction entre le bromure de bromoacétyle et l'acide 6-aminocaprique (figure 3.2).^[1] Le bromure d'hydrogène formé est neutralisé par NaOH qui est ajouté au fur et à mesure de l'avancement de la réaction (afin d'éviter que l'acide formé ne réagisse avec la fonction amine du produit de départ).

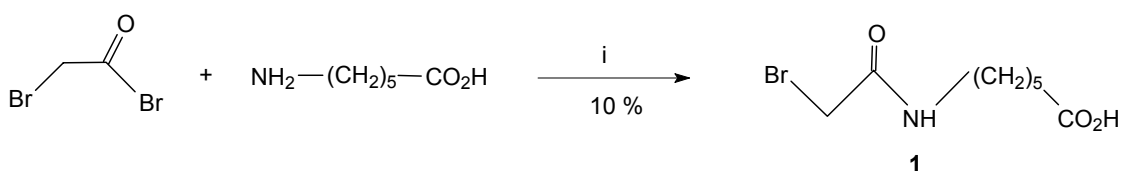


Figure 3.2 : schéma de synthèse du bras **1**.
i) NaOH, H₂O.

Le bras **2** est obtenu par réaction entre le bromure de bromoacétyle et l'hydrochlorure de phénacylamine en milieu basique (figure 3.3).^[2]

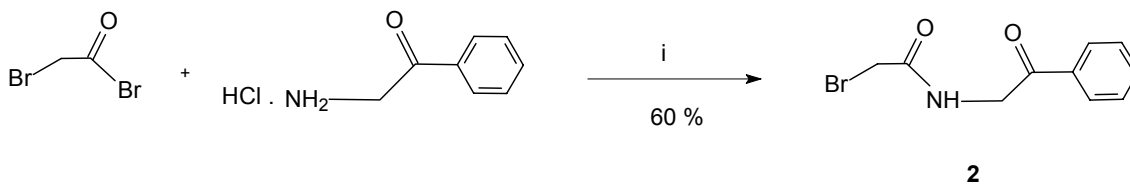


Figure 3.3 : schéma de synthèse du bras **2**.
i) NaOH, CH₂Cl₂.

III.2 Synthèse « 1 bras + 3 bras »

Nous avons choisi de fixer sur le cyclène le bras portant la fonction acide en premier, puis d'y ajouter les trois bras ayant une fonction phénacyle (figures 3.4 et 3.5).

Le cyclène est d'abord alkylé par le bras **1** (figure 3.4). Afin de prévenir la formation du dérivé dialkylé, on réalise la réaction en présence d'un excès de cyclène (5 équivalents). Le cyclène n'ayant pas réagi est récupéré par chromatographie sur gel de silice.

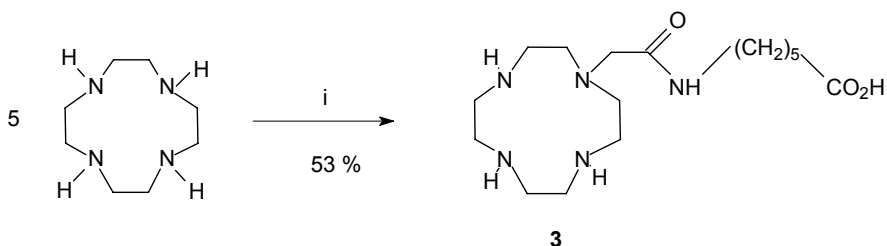


Figure 3.4 : schéma de synthèse du produit **3**.
i) **1**, CHCl₃.

Trois équivalents du bras **2** sont ensuite additionnés à l'espèce **3**, pour conduire, théoriquement, au ligand cible, **L**³ (figure 3.5). Cette réaction d'alkylation se produit en milieu basique, et le système base/solvant a une très grande influence sur son avancement. A la suite de tests avec divers systèmes, la *N,N*-diisopropyléthylamine dans le chloroforme s'est avérée comme étant la mieux appropriée.

III. Synthèse du ligand L^3

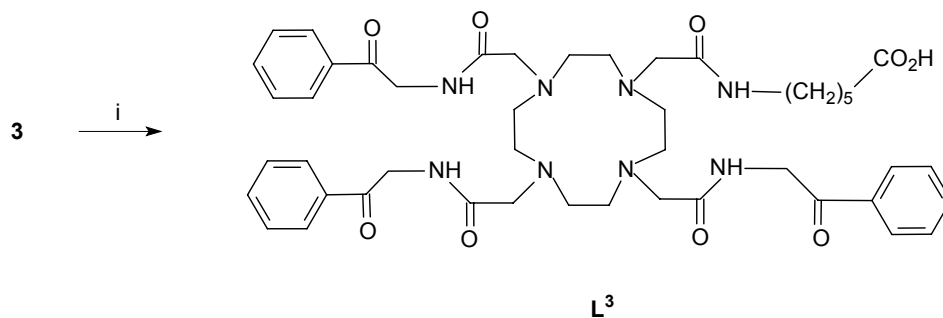


Figure 3.5 : schéma de synthèse du ligand L^3 envisagé.

i) **2**, *N,N*-diisopropyléthylamine, $CHCl_3$.

Malheureusement, ce dernier système n'a malgré tout pas été assez efficace, car il s'est formé un produit secondaire. Il s'agit d'un dérivé du ligand L^3 où une des fonctions amide a réagi avec un bras **2** (figure 3.6), qui fut inséparable du ligand L^3 . Nous avons identifié ce produit par ES-MS, mais les autres techniques d'analyse ne nous ont pas permis de déterminer précisément quelle fonction amide a subi cette réaction secondaire.

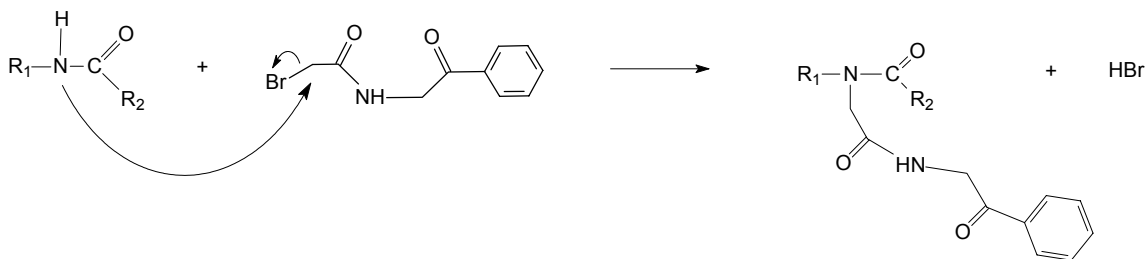


Figure 3.6 : réaction secondaire entre le bras **2** et une fonction amide du ligand L^3 .

III.3 Synthèse « 3 bras + 1 bras »

Nous avons envisagé de réaliser la synthèse du ligand désiré en formant en premier lieu le dérivé du cyclène trialkylé par les trois bras chromophores, **2**, puis en additionnant le quatrième bras fonctionnalisé, **1**. La stratégie de synthèse que nous avons prévue est représentée dans les figures 3.7 et 3.8. Mais nous avons remarqué, au cours d'une étude bibliographique, que lors de la fabrication d'un ligand asymétrique dérivé du cyclène,

l'étape du même type que celle de la figure 3.7 produisait un mélange des espèces mono, di et trialkylée, dont la séparation semblait très délicate et coûteuse en produit.^[3-9]

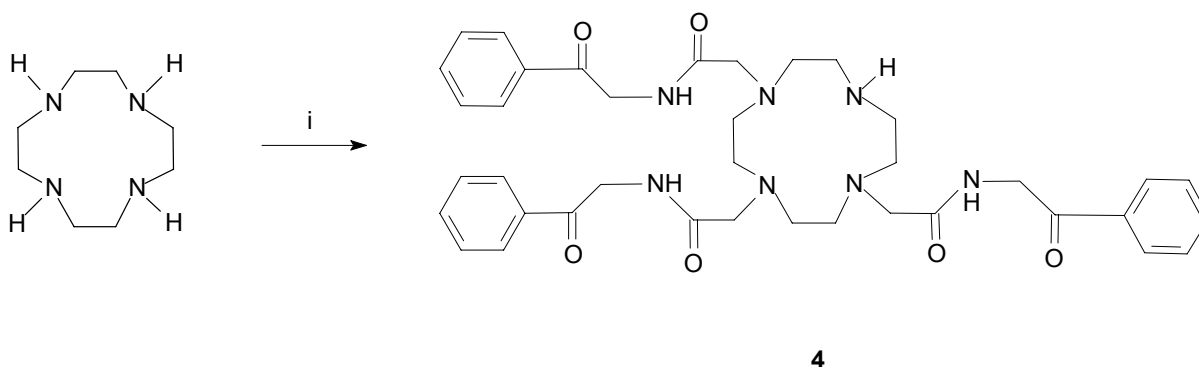


Figure 3.7: schéma de synthèse du produit **4** envisagé.

i) **2**, NEt_3 .

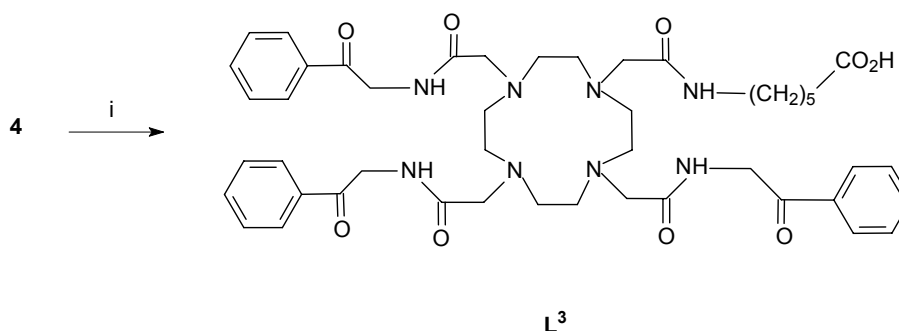


Figure 3.8: schéma de synthèse du ligand **L³** envisagé.

i) **1**, Cs_2CO_3 .

Afin de pallier à ce problème de purification, nous avons choisi de passer par un intermédiaire, l'espèce **6**, qui comporte un atome d'azote du cycle protégé par une fonction aldéhyde (Figure 3.9). Cette stratégie a malgré tout l'inconvénient d'ajouter deux étapes supplémentaires au schéma de synthèse, ce qui représente le risque de diminuer le rendement global de la fabrication du ligand désiré **L³**.

III. Synthèse du ligand L^3

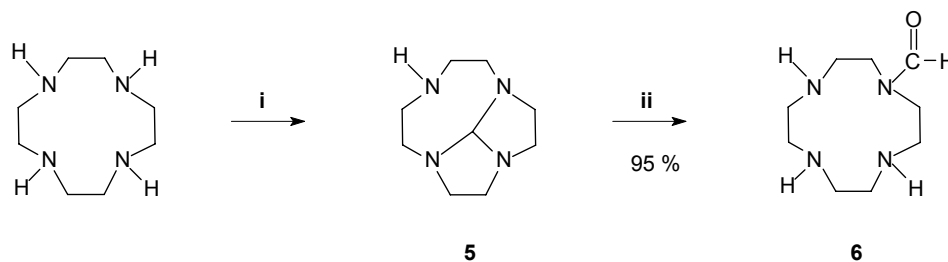


Figure 3.9: schéma de synthèse du composé **6**.

i) *N,N*-diméthylformamide diméthyl acétal, toluène, 120°C ; ii) EtOH / H₂O, -18°C

L'espèce **6** est obtenue à partir du cyclène qui, par réaction avec le *N,N*-diméthylformamide diméthylacétal, forme l'intermédiaire **5**, qui est ensuite hydrolysé.^{[10-}

^{12]} La réaction de la figure 3.9, décrite dans la littérature est ici optimisée en présence de 1.05 équivalent de *N,N*-diméthylformamide diméthylacétal par rapport au cyclène, au lieu de 1.15 équivalent qui favorisait la formation d'un dérivé portant deux fonctions aldéhyde (figure 3.10).

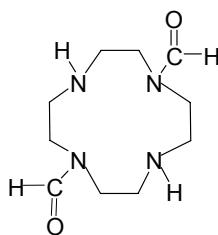


Figure 3.10 : produit secondaire dérivé de **6**.

On réalise ensuite une addition sur les trois atomes d'azote du cyclène non protégés, à l'aide de 3.1 équivalents de bras **2**, en milieu basique (figure 3.11). Il se forme le composé **7**, qui est isolé par précipitation. L'atome d'azote cyclique est ensuite déprotégé par hydrolyse en milieu acide.

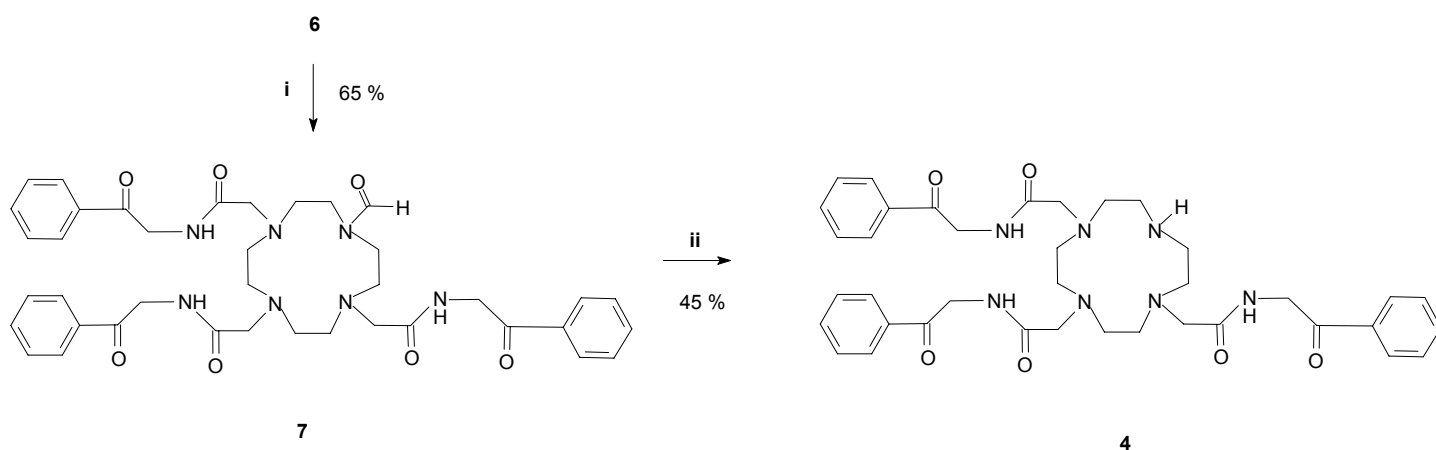


Figure 3.11: schéma de synthèse du composé **4**.
i) **2**, NEt_3 , THF; ii) HCl , H_2O / CH_3COCH_3 .

Le bras **1** est additionné en milieu basique pour former le ligand L^3 (figure 3.12).

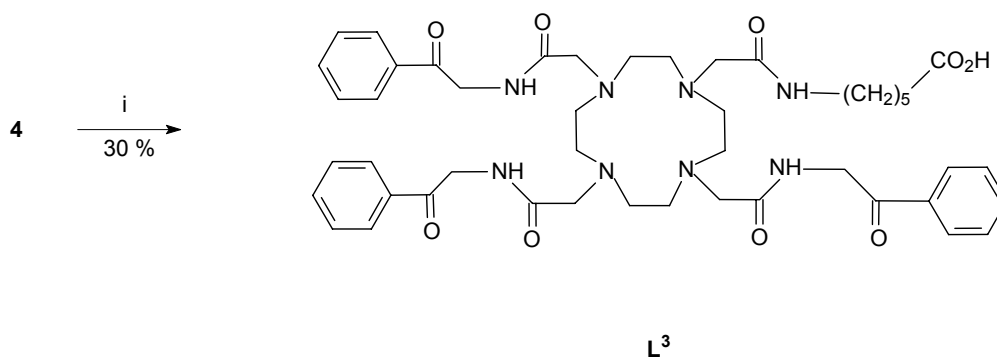


Figure 3.12: schéma de synthèse du ligand L^3 .
i) **1**, Cs_2CO_3 , CH_3CN .

Pour cette dernière étape, nous avons effectué une étude portant sur l'influence de la nature de la base sur l'évolution de la réaction, ceci afin de déterminer la base la mieux adaptée.

Pour toutes les réactions, nous avons ajouté un équivalent de bras **1** par rapport au ligand L^3 . Nous avons testé la réaction sans base, mais également en présence de triéthylamine, de base de Hünig (*N,N*-diisopropyléthylamine), de carbonate de potassium (1 et 2 équivalents par rapport au bras **1**) et de carbonate de césium. L'avancement de la réaction a été suivi par ES-MS et RMN ^1H . Le tableau 3.1 présente les résultats de cette étude.

III. Synthèse du ligand L^3

Tableau 3.1 : conditions de réaction de l'étape de la figure 3.12, produits formés et taux de conversion du bras **1**.

Base	Equiv. de base	Solvant	Temps de réaction et température	ES-MS	RMN 1H
				Produits de réaction	Taux de conversion
/	/	CHCl ₃	24 h à Temp. Amb.	L^3 29 % 4 71 %	50 %
			+ 24 h à 40°C	L^3 35 % 4 54 % 8 11 %	66 %
NEt ₃	1	THF	20 h à Temp. Amb.	L^3 39 % 4 61 %	20 %
Base de Hünig	1	CHCl ₃	20 h à Temp. Amb.	L^3 23 % 4 77 %	20 %
K ₂ CO ₃	1	CH ₃ CN	20 h à Temp. Amb.	L^3 70 % 4 30 %	50 %
			+ 13 jours à Temp. Amb.	L^3 60 % 4 22 % 8 18 %	60 %
K ₂ CO ₃	2	CH ₃ CN	20 h à Temp. Amb.	L^3 80 % 4 20 %	38 %
			+ 13 jours à Temp. Amb.	L^3 60 % 4 22 % 8 18 %	90 %
Cs ₂ CO ₃	1	CH ₃ CN	24 h à Temp. Amb.	L^3 50 % 4 50 %	100 %

L'analyse par ES-MS a permis de caractériser l'espèce de départ **4**, le ligand L^3 et un produit secondaire portant trois bras **2** et deux bras **1**, nommé composé **8**, où le second bras **1**, comme lors de la synthèse précédente, réagit sur une des fonctions amide du ligand L^3 (figure 3.3). La RMN 1H a, quant à elle, permis de différencier le bras **1** n'ayant pas réagi (signal du CH₂ en α du brome, δ = 3.73 ppm dans CD₃CN) du bras **1** ayant réagi (signal du CH₂ en α de l'azote du cyclène sur le bras ayant réagi, δ = 3.98 ppm dans CD₃CN) et de calculer le taux de conversion du bras **1**.

D'après les résultats du tableau 3.1, il semble que le carbonate de césium soit la base la mieux adaptée à notre réaction. En effet, pour se terminer, la réaction ne nécessite que 24h, à température ambiante ; il ne se forme pas de produit secondaire, et cette réaction est la seule où la totalité du bras **1** réagit sur le cyclène. Par contre, on n'observe que

50 % de conversion de l'espèce **4**, mais il est bien connu que l'analyse par ES-MS n'est que semi-quantitative, et donc que ces taux de conversion sont à estimer avec une grande prudence, contrairement à l'analyse par RMN ^1H qui est quantitative, et qui permet de se rendre compte parfaitement de l'avancement d'une réaction.

Durant la réaction en absence de base, seulement 50 % du bras **1** a réagi sur le cyclène, et si l'on chauffe par la suite à 40°C pendant 24 heures, il se produit la réaction secondaire d'alkylation du bras bromé sur une fonction amide d'un bras du ligand, comme décrit auparavant (Figure 3.6). Il en est de même pour le carbonate de potassium, que ce soit en présence de 1 ou 2 équivalents de base. En ce qui concerne les bases azotées, elles ne provoquent que la réaction de 20% du bras **1** sur le cyclène après 24 heures de réaction.

Le ligand **L**³ a ainsi été synthétisé en huit étapes, avec un rendement global de 9 %, après purification sur deux colonnes à échange d'ions.

III.4 Synthèse des complexes

Les complexes de lanthanide furent synthétisés à partir d'un mélange équimolaire de ligand **L**³ et de sels de triflate de lanthanides, dans un solvant polaire comme l'acétonitrile ou l'eau. Comme la complexation est relativement lente à s'accomplir, ces solutions furent chauffées à reflux durant trois jours. De nombreux essais de recristallisation sur tous les complexes se sont avérés infructueux. Nous les avons donc isolés par précipitation ou par évaporation du solvant.

Ils ont ensuite été caractérisés par des analyses IR et analyses élémentaires.

Références

- [1] H. Yamada, F. Uozumi, A. Ishikawa, T. Imoto, *J. Biochem.* **1984**, 95, 503.
- [2] G. Zucchi, Thèse de doctorat, Université de Lausanne **2000**.
- [3] séparation par précipitation: S. Aime, E. Gianolio, E. Terreno, G. B. Giovenzana, R. Pagliarin, M. Sisti, G. Palmisano, M. Botta, M. P. Lowe, D. Parker, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2000**, 5, 488; R. S. Dickins, S. Aime, A. S. Batsanov, A. Beeby, M. Botta, J. I. Bruce, J. A. K. Howard, C.S. Love, D. Parker, R. D. Peacock, H. Pusmann, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 12697; A. Dadabhoy, S. Faulkner, P. G. Sammes, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2002**, 348; L. L. Chappell, D. A. Voss, W. de W. Horrocks, J. R. Morrow, *Inorg. Chem.* **1998**, 37, 3989; P. L. Anelli, L. Lattuada, M. Gabellini, P. Recanati, *Bioconjugate Chem.* **2001**, 12, 1081.
- [4] séparation par colonne de silice: S. Aoki, H. Kawatani, T. Goto, E. Kimura, M. Shiro, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 1123; M. P. Lowe, D. Parker, O. Reany, S. Aime, M. Botta, G. Castellano, E. Gianoli, R. Pagliarin, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 7601; S. Blair, M. P. Lowe, C. E. Mathieu, D. Parker, P. K. Senanayake, R. Katakya, *Inorg. Chem.* **2001**, 40, 5860.
- [5] séparation par chromatographie «flash» sur gel de silice: T. Gunnlaugsson, A. J. Harte, J. P. Leonard, M. Nieuwenhuizen, *Chem. Commun.* **2002**, 2134; X. Li, S. Zhang, P. Zhao, Z. Kovacs, A. D. Sherry, *Inorg. Chem.* **2001**, 40, 6572.
- [6] séparation par colonne d'alumine : R. S. Dickins, T. Gunnlaugsson, D. Parker, R. D. Peacock, *Chem. Commun.* **1998**, 1643; S. Aime, M. Botta, R. S. Dickins, C. L. Maupin, D. Parker, J. P. Riehl, J. A. G. Williams, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1998**, 881.
- [7] séparation par colonne à échange d'anions + HPLC : R. S. Ranganathan, R. K. Pillai, N. Raju, H. Fan, H. Nguyen, M. F. Tweedle, J.-F. Desreux, V. Jacques, *Inorg. Chem.* **2002**, 41, 6846 ; S. I. Kang, R. S. Ranganathan, J. E. Emswiler, K. Kumar, J. Z. Gougoutas, M. F. Malley, M. F. Tweedle, *Inorg. Chem.* **1993**, 32, 2912.
- [8] séparation par colonne à échange de cations : J. Rohovec, P. Vojtisek, P. Hermann, J. Ludvík, I. Lukes, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2000**, 141.

- [9] séparation par HPLC : J. P. L. Cox, A. S. Craig, I. M. Helps, K. J. Jankowski, D. Parker, M. A. W. Eaton, A. T. Millican, K. Millar, N. R. A. Beeley, B. A. Boyce, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1990**, 2567.
- [10] J. Platzek, P. Blaszkiewicz, H. Gries, P. Luger, G. Michl, A. Müller-Fahrnow, B. Radüchel, D. Sülzle, *Inorg. Chem.* **1997**, 36, 6086.
- [11] C. Glogard, R. Hovland, S. L. Fohsheim, A. J. Aasen, J. Klaveness, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2000**, 1047.
- [12] D. D. Dischino, E. J. Delaney, J. E. Emswiler, G. T. Gaughan, J. S. Prasad, S. K. Srivastava, M. F. Tweedle, *Inorg. Chem.* **1991**, 30, 1265.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

Nous nous sommes orientés dans cette partie vers les propriétés physico-chimiques du ligand L^3 , dont nous venons de décrire la synthèse, et celles de son homologue, le ligand symétrique L^1 (figure 4.1).

L'approche thermodynamique des ligands et de leurs complexes de lanthanide nous a permis de découvrir les formes sous lesquelles ils existent en solution aqueuse, et d'examiner la stabilité des complexes. L'étude photophysique des composés nous a enseigné les propriétés générales de luminescence des ligands et des complexes, et nous avons ensuite dirigé ces études vers une finalité plus appliquée, afin de répondre à la question « ce nouveau ligand L^3 , dérivé du ligand L^1 , a-t-il toujours des propriétés photophysiques adaptées pour des applications biomédicales ? ».

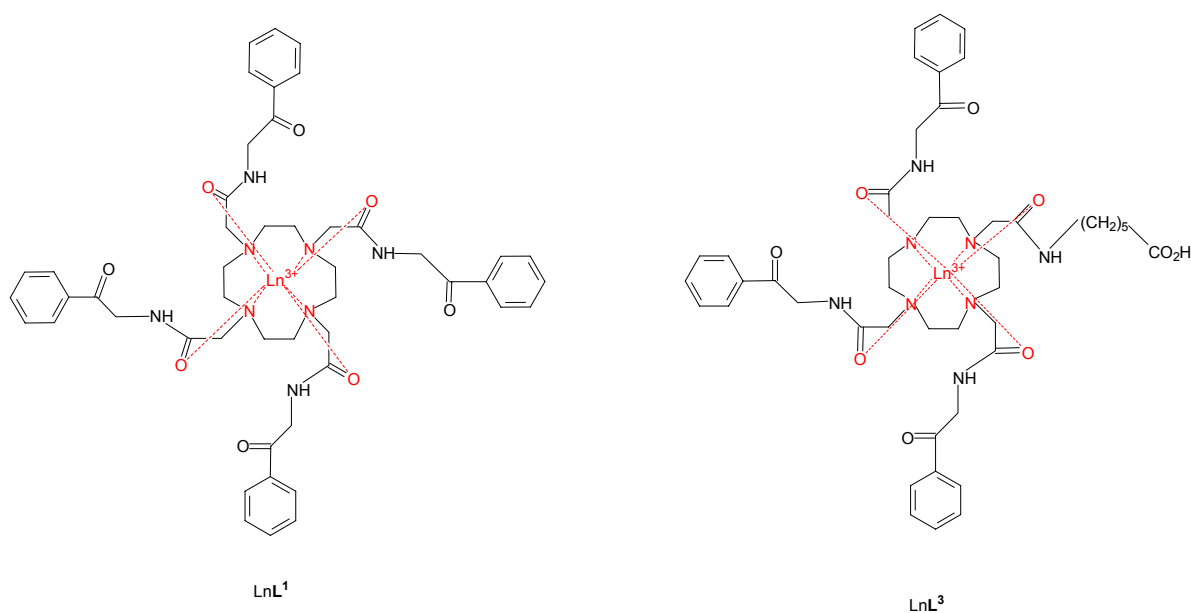


Figure 4.1: schéma des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes de lanthanides.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

IV.1 Thermodynamique en solution

L'aspect thermodynamique des ligands et de leurs complexes nous renseigne sur le comportement et la stabilité des espèces en solution aqueuse, ce qui va nous permettre d'expliquer certaines des propriétés luminescentes, développées dans la partie IV.2.

L'étude thermodynamique des complexes TbL^1 et TbL^3 dans l'eau s'est traduite par la réalisation de leurs diagrammes de distribution, après avoir déterminé les constantes d'acidité de leurs ligands respectifs et des complexes eux-mêmes, ainsi que leurs constantes de formation. Une discussion sur les données nous a permis de tirer des conclusions sur les différences de coordination du métal avec les deux ligands, et des conséquences qu'elles peuvent apporter à la luminescence des composés.

La constante de stabilité du complexe EuL^1 a été déterminée et comparée à celle du complexe de terbium afin d'évaluer l'influence du métal sur la coordination avec le ligand.

La plupart des études a été réalisée par des titrages UV-vis et les données ont été traitées par le logiciel Specfit[®]. Malgré la mise en évidence, pour un titrage donné, des constantes provenant des variations des bandes d'absorption des composés, il faut néanmoins considérer ces résultats avec prudence. En effet, le nombre de constantes à déterminer par titrage semble, dans une première approche, élevé par rapport aux variations des bandes d'absorption. Leurs valeurs qui sont déduites peuvent donc contenir une erreur non négligeable.

IV.1.1 Diagramme de distribution du complexe TbL^1 dans l'eau

Nous avons déterminé, dans un premier temps, les constantes d'acidité du ligand L^1 dans Me_4NCl 0.1 M, ce qui nous a permis, dans un second temps, d'élaborer le diagramme de distribution du complexe $[\text{Tb}(\text{L}^1)]^{3+}$ ainsi que sa constante de complexation.

Nous avons utilisé pour ces mesures la méthode du titrage UV-vis qui consiste à étudier les variations de la bande d'absorption du ligand libre ou du complexe par rapport à la variation du pH de la solution, afin de déduire, au moyen d'un logiciel de traitement des données, les constantes escomptées.

IV.1.1.1 Constantes d'acidité du ligand L^1

Une solution aqueuse de Me_4NCl 0.1 M contenant le ligand L^1 à une concentration de 6.10^{-5} M, et dont le pH avait été ajusté à 1.5 par HCl , a été titrée par NaOH . Les spectres d'absorption relatifs au titrage sont représentés dans la figure 4.2. Le spectre d'absorption du ligand L^1 présente une bande dont le maximum se situe vers 40322 cm^{-1} (248 nm), correspondant à une transition $\pi \rightarrow \pi^*$, et un épaulement vers 35088 cm^{-1} (285 nm), correspondant à une transition $n \rightarrow \pi^*$. Ces deux bandes augmentent légèrement avec le pH.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

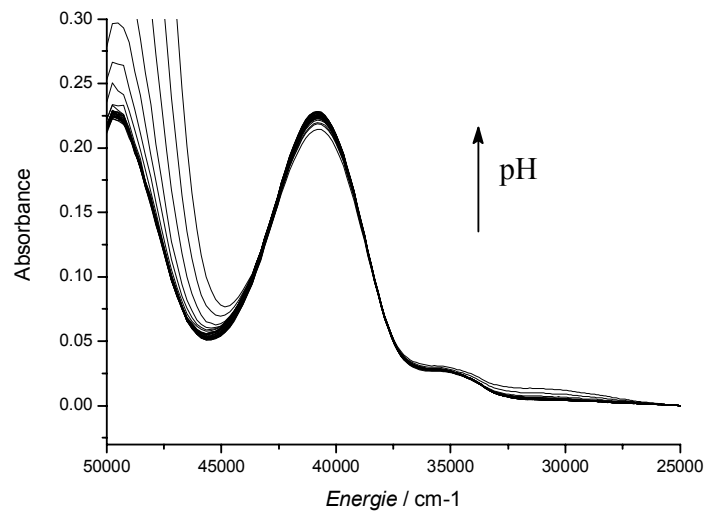


Figure 4.2: spectres d'absorption du ligand L^1 dans l'eau en fonction du pH.
 $[L^1] = 6.10^{-5}$ M.

L'analyse factorielle indique l'existence de quatre espèces :

#	Eigenvalue	Square Sum	Residual	Prediction
1	2.168E+03	2.592E-01	8.683E-03	Data Vector
2	2.051E-01	5.410E-02	3.967E-03	Data Vector
3	3.507E-02	1.903E-02	2.353E-03	Data Vector
4	1.418E-02	4.844E-03	1.188E-03	Data Vector
5	2.274E-03	2.571E-03	8.652E-04	Probably Data
6	1.332E-03	1.238E-03	6.005E-04	Probably Data
7	2.668E-04	9.714E-04	5.320E-04	Probably Noise
8	1.611E-04	8.103E-04	4.860E-04	Probably Noise

Mais avec un modèle contenant cinq espèces différentes, les calculs convergent vers un résultat satisfaisant, avec des erreurs relativement faibles :

[SPECIES]	[FIXED]	[PARAMETER]	[ERROR]
1 0	True	0.00000E+00	+/- 0.00000E+00
1 1	False	1.22593E+01	+/- 1.40561E-01
1 2	False	2.15050E+01	+/- 2.12205E-01
1 3	False	2.79221E+01	+/- 3.30417E-01
1 4	False	3.31970E+01	+/- 4.19300E-01

L'erreur expérimentale relative pour ce titrage est de 5 % environ.

IV.1.1 Diagramme de distribution du complexe TbL^1 dans l'eau

Les coefficients d'absorption molaires ont été recalculés (figure 4.3), et correspondent à la valeur globale mesurée, égale à $37500 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, pour une absorbance de 0.225, une longueur de chemin optique de 0.1 cm et une concentration de 6.10^{-5} M .

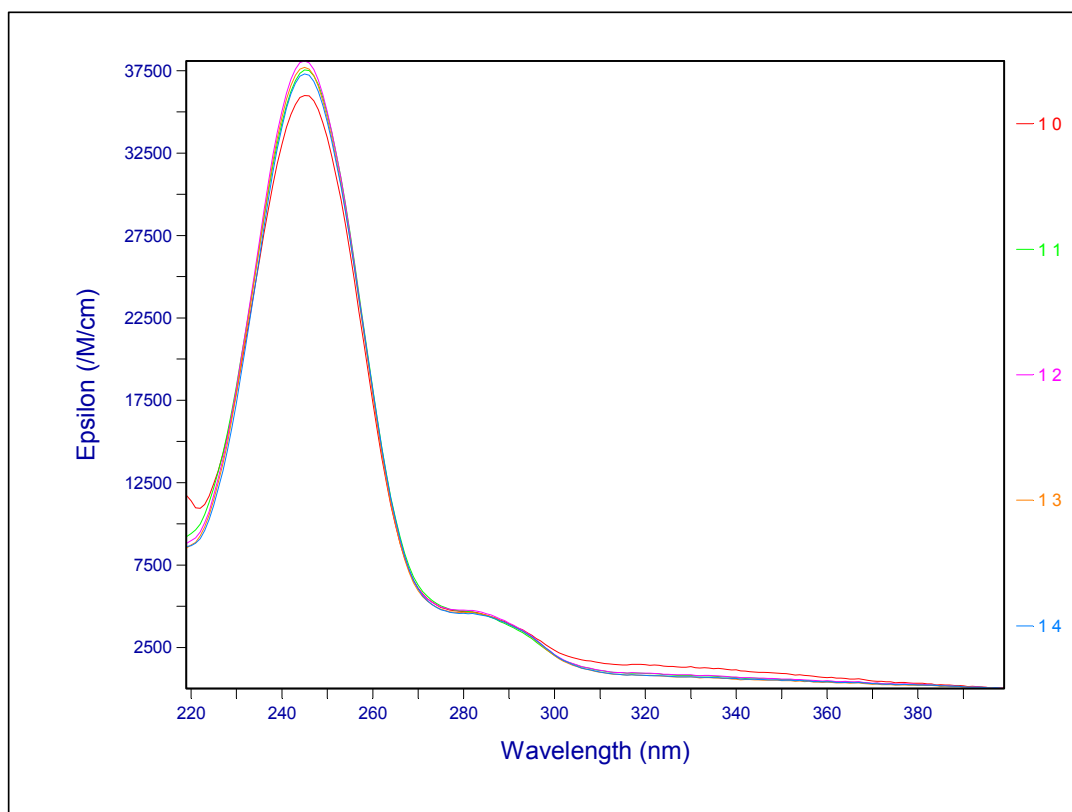
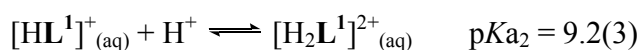
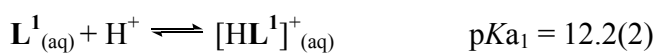


Figure 4.3 : coefficients d'absorption molaires du ligand L^1 recalculés.

On en déduit quatre constantes d'acidité, qui indiquent l'existence de cinq espèces, selon les équilibres de protonation suivants :



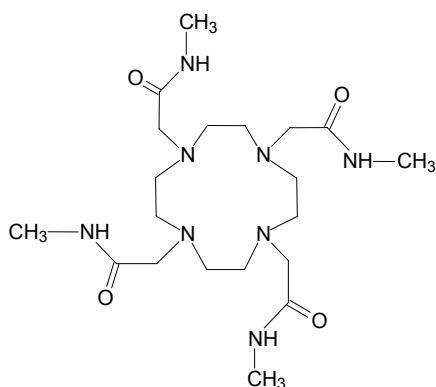
IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

On note cependant que les variations des spectres en fonction du pH sont faibles (figure 4.2) et que les spectres des différentes espèces sont très peu différenciés, si bien que les valeurs ci-dessus doivent être considérées avec précaution.

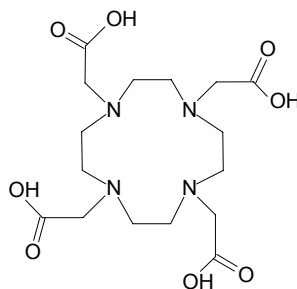
Ces quatre pK_a correspondent aux constantes de protonation des quatre atomes d'azote du cycle. Les valeurs obtenues indiquent une basicité plus importante par rapport à d'autres dérivés du cyclène ayant des bras portant des fonctions amide ou acide. Ceci est certainement dû à la présence des groupements phénacyle. En exemple, le tableau 4.1 indique les constantes d'acidité des ligands DTMA (figure 4.4), DOTA dans Me_4NCl 0.1 M, et du cyclène dans l'eau.

Tableau 4.1: constantes d'acidité des ligands L^1 , DTMA, DOTA et du cyclène.

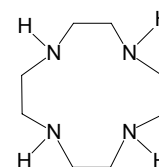
	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}	pK_{a4}
L^1	12.2(2)	9.2(3)	6.4(4)	5.3(3)
DTMA ^[1]	-	9.27(1)	5.55(2)	1.56(7)
DOTA ^[2]	11.73(3)	9.40(2)	4.50(4)	4.19(6)
Cyclène ^[3]	10.6	9.6	1.5	0.7



DTMA



DOTA



Cyclène

Figure 4.4 : schéma des ligands DTMA, DOTA et cyclène.

Le diagramme de distribution correspondant aux constantes d'acidité du ligand L^1 est représenté en figure 4.5.

IV.1.1 Diagramme de distribution du complexe TbL^1 dans l'eau

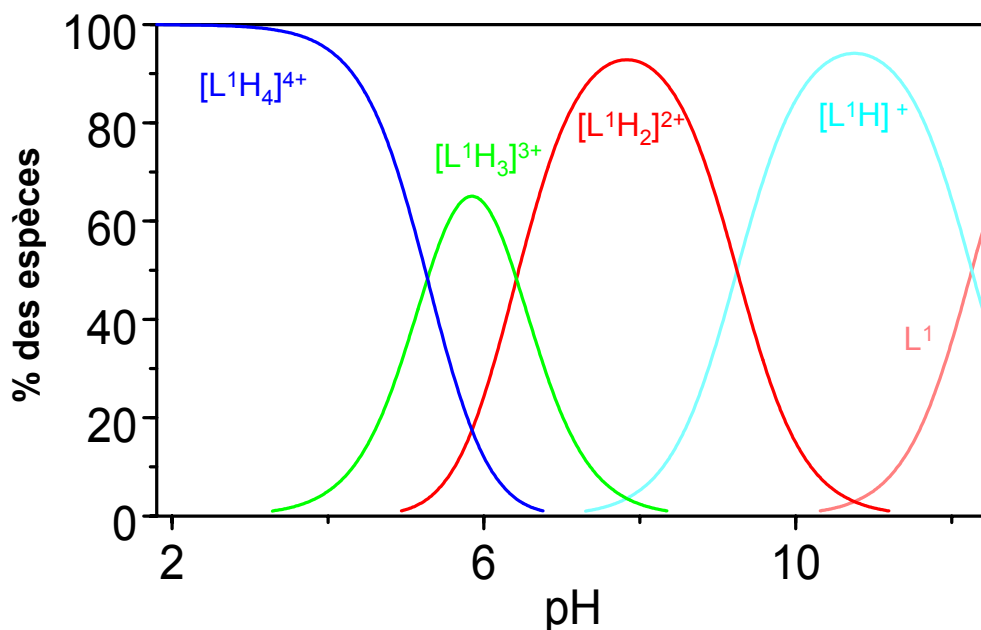


Figure 4.5 : diagramme de distribution du ligand L^1 .

IV.1.1.2 Constantes d'acidité, constante de complexation et diagramme de distribution du complexe TbL^1

Les constantes d'acidité du complexe TbL^1 , ainsi que sa constante de complexation ont été déterminées par titrages UV-vis en fonction du pH. Comme la cinétique de complexation des dérivés du cyclène est très lente (en moyenne trois semaines), nous avons préparé trente solutions aqueuses contenant le ligand L^1 à 1.10^{-5} M et $[Tb(CF_3SO_3)_3]$ à 1.10^{-5} M dans Me_4NCl 0.1 M qui ont été disposées dans un bain thermostaté à 25°C et laissées sous agitation durant quatre semaines de manière à ce que se forme le complexe $[TbL^1]$ *in situ*. Le pH des solutions a ensuite été ajusté, par NaOH ou HCl, de sorte à obtenir une gamme de pH allant de 1.5 à 12.5, puis les solutions ont à nouveau été mises sous agitation jusqu'à ce que leur pH se soit stabilisé. A ce stade, le spectre UV-vis de chaque solution a été enregistré (figure 4.6).

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

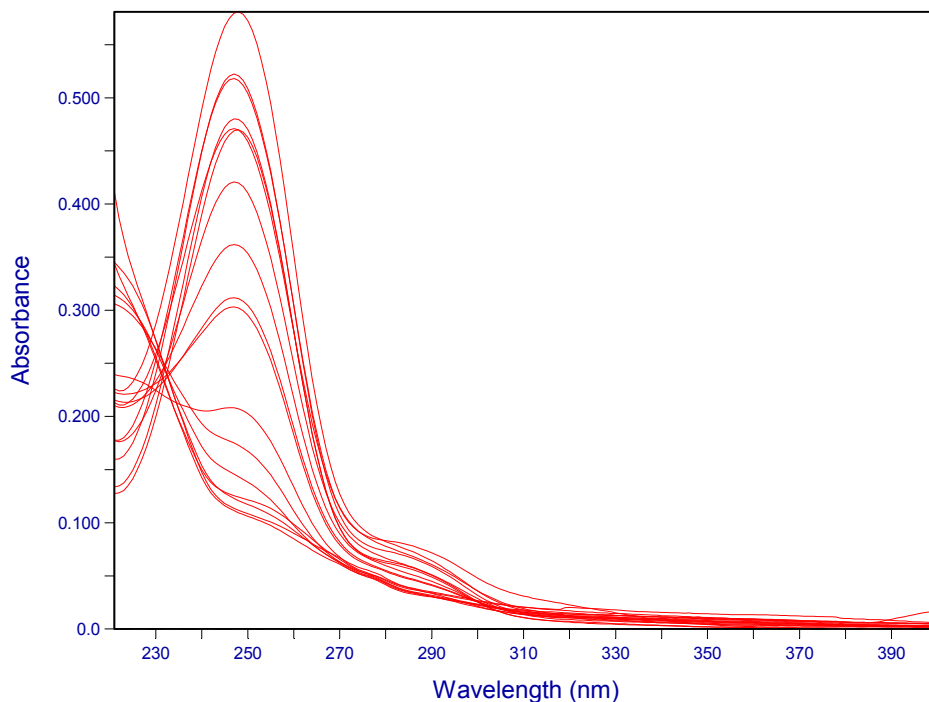


Figure 4.6: spectres UV-vis du complexe TbL^1 dans Me_4NCl 0.1 M, en fonction du pH.
 $[TbL^1] = 1.10^{-5}$ M.

L'analyse factorielle indique l'existence de sept espèces :

#	Eigenvalue	Square Sum	Residual	Prediction
1	6.044E+01	3.591E+00	3.426E-02	Data Vector
2	3.563E+00	2.789E-02	3.020E-03	Data Vector
3	1.436E-02	1.354E-02	2.104E-03	Data Vector
4	6.643E-03	6.892E-03	1.502E-03	Data Vector
5	3.051E-03	3.841E-03	1.121E-03	Data Vector
6	1.958E-03	1.883E-03	7.852E-04	Data Vector
7	1.591E-03	2.918E-04	3.091E-04	Data Vector
8	1.638E-04	1.280E-04	2.048E-04	Possibly Data
9	6.620E-05	6.178E-05	1.423E-04	Probably Noise
10	2.379E-05	3.799E-05	1.116E-04	Probably Noise

Dans ce modèle, nous avons considéré l'existence de trois espèces correspondant au complexe et quatre autres correspondant au ligand.

IV.1.1 Diagramme de distribution du complexe TbL^1 dans l'eau

Les calculs convergent vers un résultat satisfaisant, avec des erreurs relativement faibles :

[SPECIES]	[FIXED]	[PARAMETER]	[ERROR]
1 0 0	True	0.00000E+00	+/- 0.00000E+00
0 1 0	True	0.00000E+00	+/- 0.00000E+00
0 1 1	True	1.22590E+01	+/- 0.00000E+00
0 1 2	True	2.15050E+01	+/- 0.00000E+00
0 1 3	True	2.79220E+01	+/- 0.00000E+00
0 1 4	True	3.31970E+01	+/- 0.00000E+00
1 1 -1	False	5.40512E+00	+/- 1.93401E-01
1 1 0	False	1.50390E+01	+/- 1.38769E-01
1 1 1	False	2.37244E+01	+/- 9.36504E-02

$$\sigma = 6,277.10^{-3}$$

L'erreur expérimentale relative lors du titrage est de 19 % environ.

Les coefficients d'absorption molaires ont été recalculés (figure 4.7).

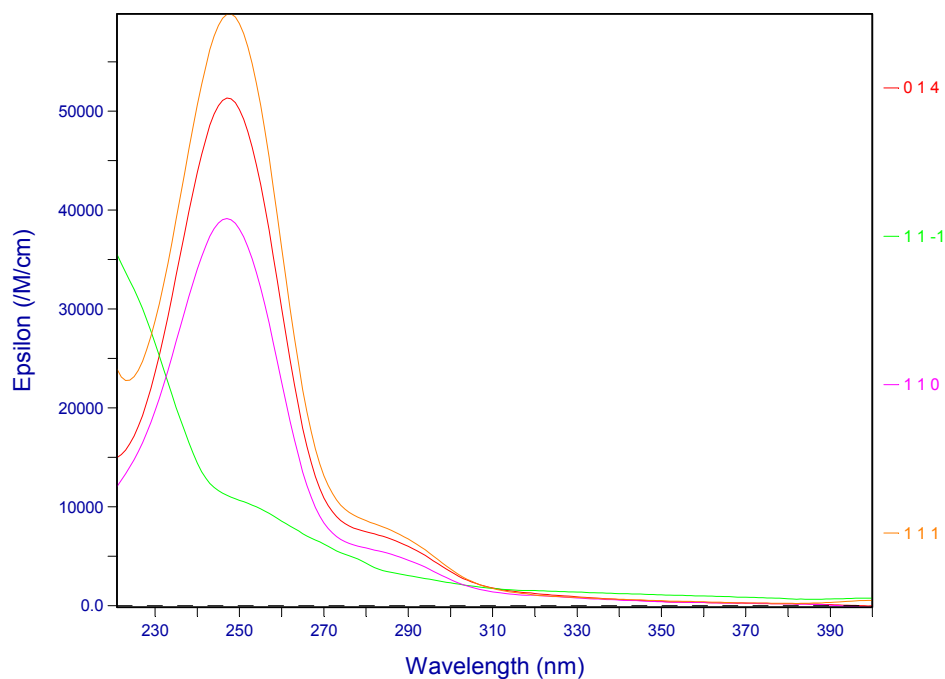


Figure 4.7 : coefficients d'absorption molaires des espèces $[L^1(H)]^+$, $[Tb(L^1)(H)]^{4+}$, $[Tb(L^1)]^{3+}$ et $[Tb(L^1)(OH)]^{2+}$ recalculés, les concentrations des autres espèces sont négligeables.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

Deux autres modèles ont été testés en parallèle avec celui présenté ci-dessus, mais le traitement des données a abouti à des résultats moins intéressants. Le premier comporte deux espèces du complexe, et les meilleurs résultats de ce type de modèle ont été obtenus avec les espèces $[TbL^1]$ et $[TbL^1(OH)]^-$. Le second comporte trois espèces du complexe, à savoir les espèces $[TbL^1]$, $[TbL^1H]^+$ et $[TbL^1H_2]^{2+}$.

Le traitement des données avec ces deux modèles a abouti aux résultats suivants :

Premier modèle :

[SPECIES]	[FIXED]	[PARAMETER]	[ERROR]
1 0 0	True	0.00000E+00 +/-	0.00000E+00
0 1 0	True	0.00000E+00 +/-	0.00000E+00
0 1 1	True	1.22590E+01 +/-	0.00000E+00
0 1 2	True	2.15050E+01 +/-	0.00000E+00
0 1 3	True	2.79220E+01 +/-	0.00000E+00
0 1 4	True	3.31970E+01 +/-	0.00000E+00
1 1 -1	False	9.72794E+00 +/-	1.54742E-01
1 1 0	False	1.90475E+01 +/-	1.59477E-01

$$\sigma = 8,483.10^{-3}$$

Second modèle :

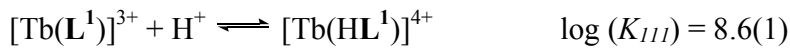
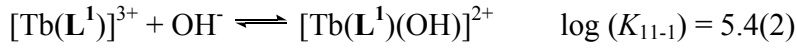
[SPECIES]	[FIXED]	[PARAMETER]	[ERROR]
1 0 0	True	0.00000E+00 +/-	0.00000E+00
0 1 0	True	0.00000E+00 +/-	0.00000E+00
0 1 1	True	1.22590E+01 +/-	0.00000E+00
0 1 2	True	2.15050E+01 +/-	0.00000E+00
0 1 3	True	2.79220E+01 +/-	0.00000E+00
0 1 4	True	3.31970E+01 +/-	0.00000E+00
1 1 0	False	1.66177E+01 +/-	2.51681E-01
1 1 1	False	2.59398E+01 +/-	2.51941E-01
1 1 2	False	3.11576E+01 +/-	4.89747E-01

$$\sigma = 7,971.10^{-3}$$

Bien que les erreurs sur les valeurs des $\log(\beta)$ soient plus faibles pour le premier modèle que celui choisi, la valeur de σ est plus élevée. Les erreurs sur les valeurs des $\log(\beta)$ et la valeur de σ du second modèle sont également plus élevées que celles du modèle choisi.

IV.1.1 Diagramme de distribution du complexe TbL^1 dans l'eau

Les équilibres et leurs constantes, correspondant au modèle choisi sont donnés ci-dessous :



Afin de corréliser des ligands entre eux, en fonction de leur pouvoir complexant vis-à-vis des métaux, K. N. Raymond a mis au point une méthode permettant de calculer la valeur du pM d'un ligand vis-à-vis d'un métal.^[4] Celui-ci reflète la quantité de métal libre en solution :

$$pM = -\log [M]_{\text{libre}}$$

Les conditions de calcul de ces valeurs sont standardisées et sont calculées pour une concentration en métal de $[M] = 10^{-6}$ M, une concentration en ligand de $[L] = 10^{-5}$ M à un pH de 7,4. Dans notre cas, on obtient une concentration en métal libre $[Tb] = 3,85 \cdot 10^{-10}$ M, ce qui donne $pTb(L^1) = 9.4$. La valeur est comparée avec celle du complexe TbL^3 dans le chapitre IV.1.3 *Diagramme de distribution du complexe TbL^3 dans l'eau*

Le complexe $[Tb(L^1)]^{3+}$ se comporte de manière similaire au complexe $[Gd(DTMA)]^{3+}$ étudié dans la littérature^[1, 5] (espèce neutre, espèce protonée et espèce hydroxylée). Par contre, il ne reproduit pas le comportement du complexe $[Eu(DTMA)]^{3+}$, qui ne présente pas d'espèce protonée.^[5]

Les données calculées précédemment amènent au diagramme de distribution en solution représenté en figure 4.8.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

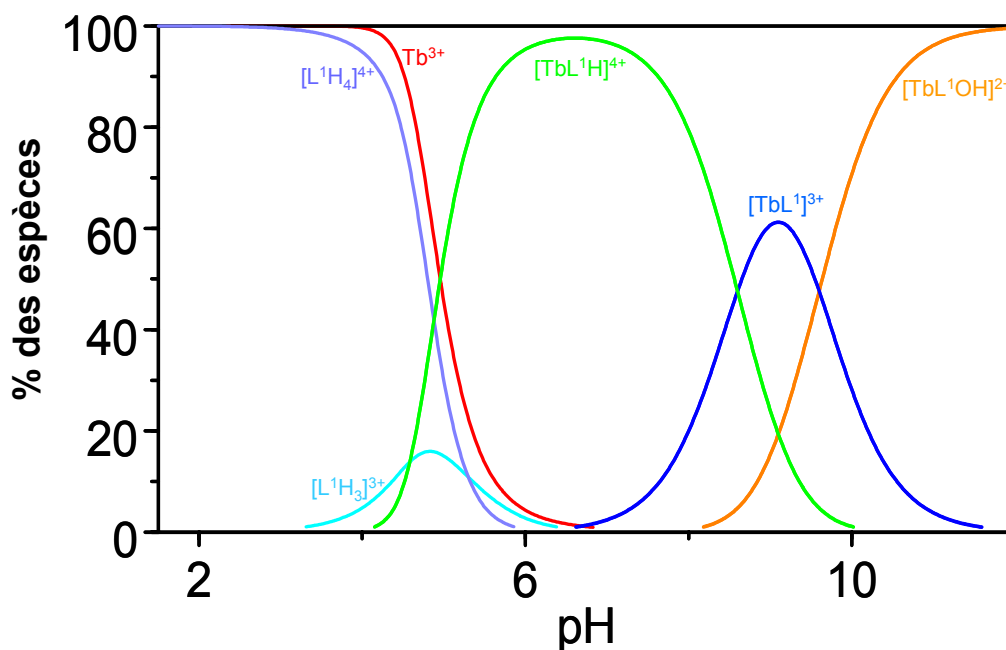


Figure 4.8: diagramme de distribution du complexe TbL^1 dans Me_4NCI 0.1 M.
 $[Tb^{3+}] = [L^1] = 1.10^{-5}$ M.

D'après ce diagramme, le complexe TbL^1 est majoritairement sous sa forme monoprotinée entre les pH 6 et 7.5. A pH plus élevé, vers pH 9, il se forme l'espèce neutre, puis l'espèce hydroxylée à des pH très basiques. Dans la gamme des pH acides, dès pH 6, le terbium tend à se décomplexer pour l'être totalement en-dessous de pH 4. On est alors en présence du ligand libre tri- et tétraprotoné. Ce comportement est similaire à celui du complexe $[Gd(DTMA)]^{3+}$ dans $Me_4N(NO_3)$, sauf que ce dernier se présente sous sa forme neutre entre les pH 5 et 7.

IV.1.2 Constante de stabilité du complexe EuL^1 à pH 6.5, dans Me_4NCl 0.1 M

La constante de stabilité K_{stab} du complexe EuL^1 dans l'eau est définie selon la réaction :



Sa valeur fut déterminée au moyen d'un titrage compétitif avec un autre ligand, le 1,4,7,10-tétrakis(méthylcarbamoylméthyl)-1,4,7,10-tétraazacyclododécane (DTMA). Sa structure en solution est très similaire au ligand étudié, car il comporte les mêmes fonctions coordinantes, et la constante de stabilité de $[\text{Eu}(\text{DTMA})]^{3+}$ est connue : $\log(K_{\text{stab}}) = 13.17 \pm 0.04$ dans $\text{Me}_4\text{N}(\text{NO}_3)$ 0.1 M à 298.1 K.^[5] Nous nous attendons à ce que les constantes de stabilité des deux complexes soient du même ordre de grandeur, condition nécessaire à ce type de titrage.

IV.1.2.1 Spectres d'absorption et coefficients d'absorption molaires

Lorsque le ligand L^1 est complexé par l'ion $\text{Eu}(\text{III})$, le déplacement de sa bande d'absorption est trop faible pour être pris en considération par le logiciel de traitement des données (figure 4.9). En revanche, les deux espèces peuvent être différenciées par leurs coefficients d'absorption molaires. Celui du ligand libre est environ de $42000 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ à 40322 cm^{-1} (248 nm) et celui du complexe environ de $50000 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ à la même énergie.

Le ligand DTMA ne comportant pas de groupement chromophore, son absorbance et celle de son complexe d'euprium sont considérées comme étant négligeables, à cette longueur d'onde.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

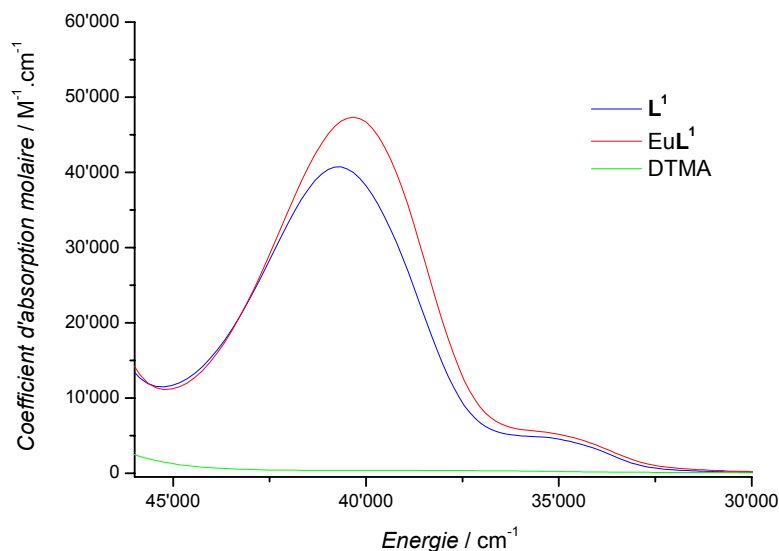


Figure 4.9: coefficients d'absorption molaire de L^1 , EuL^1 et DTMA.

IV.1.2.2 Etude cinétique

Une étude sur la cinétique de formation du complexe a été réalisée. Il s'agit de suivre par absorption UV-vis l'évolution de la bande du ligand L^1 en fonction du temps, une fois qu'est ajouté un équivalent de $Eu(III)$. Le métal est ajouté au temps $t = 0$ (figure 4.10). La concentration des entités est de 1.10^{-5} M.

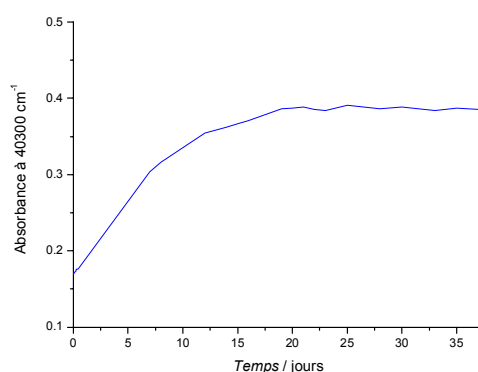


Figure 4.10: évolution de la bande d'absorption du ligand L^1 en présence d'un équivalent d'ion $Eu(III)$, en fonction du temps.

IV.1.2.3 Constante de stabilité

D'après la figure 4.26, la durée de formation thermodynamique du complexe en solution est de 25 jours environ, ce qui n'a pas rendu possible le titrage d'une solution, contenant un équivalent de ligand L^1 et un équivalent de DTMA, par des ajouts successifs d'équivalents connus en ion Eu(III) . De manière alternative, nous avons préparé trente solutions individuelles, chacune contenant 2.10^{-5} M de ligand L^1 , 2.10^{-5} M de ligand DTMA, et différents équivalents d'euprium, allant de 0 à 1.5 équivalent par rapport aux deux ligands. Les solutions ont été laissées sous agitation, à température (298 ± 0.5 K) et pH constants (6.5 ± 0.5) pendant quatre semaines, puis le spectre d'absorption de chaque solution a été enregistré (Figure 4.11).

Ils ont révélé une diminution de la bande à 40650 cm^{-1} (246 nm) avec l'augmentation de la quantité en ion Eu(III) ajouté, ainsi qu'un léger déplacement vers 40322 cm^{-1} (248 nm). Ceci traduit le fait que DTMA est plus coordinant que L^1 et ainsi, l'ajout croissant de Eu(III) à la solution crée un effet de dilution sur ce dernier. Si $[\text{Eu}(\text{L}^1)]^{3+}$ avait été plus stable que $[\text{Eu}(\text{DTMA})]^{3+}$, la formation du complexe aurait compensé l'effet de dilution et la bande à 40650 cm^{-1} serait soit restée stable, soit elle aurait augmenté en intensité.

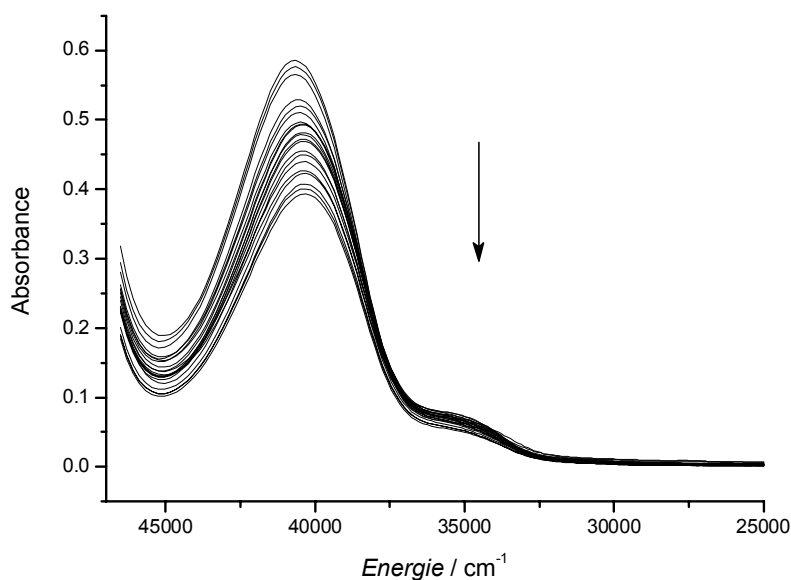


Figure 4.11 : spectres UV-VIS du mélange des ligands L^1 et DTMA en fonction de la concentration en ion Eu(III) , à pH 5.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

L'analyse factorielle indique l'existence de quatre espèces :

#	Eigenvalue	Square Sum	Residual	Prediction
1	1.283E+02	1.562E-01	8.006E-03	Data Vector
2	1.359E-01	2.029E-02	2.886E-03	Data Vector
3	1.762E-02	2.665E-03	1.046E-03	Data Vector
4	1.799E-03	8.660E-04	5.965E-04	Data Vector
5	4.560E-04	4.099E-04	4.105E-04	Possibly Data
6	3.014E-04	1.086E-04	2.113E-04	Possibly Data
7	6.045E-05	4.810E-05	1.407E-04	Probably Noise
8	2.747E-05	2.063E-05	9.213E-05	Probably Noise

Dans le modèle, nous avons considéré l'existence de deux espèces colorées, le ligand L^1 et le complexe EuL^1 , et deux espèces non colorées, le ligand DTMA et le complexe $Eu(DTMA)$. Les calculs convergent vers un résultat satisfaisant, avec des erreurs relativement faibles :

[SPECIES]	[COLORED]	[FIXED]	[PARAMETER]	[ERROR]
1 0 0 Eu(III)	False	True	0.00000E+00 +/-	0.00000E+00
0 1 0 L^1	True	True	0.00000E+00 +/-	0.00000E+00
0 0 1 DTMA	False	True	0.00000E+00 +/-	0.00000E+00
1 1 0 $Eu(L^1)$	True	False	1.28899E+01 +/-	1.48888E-01
1 0 1 $Eu(DTMA)$	False	True	1.31700E+01 +/-	0.00000E+00

$$\sigma = 3.673 \cdot 10^{-3}$$

L'erreur expérimentale relative lors du titrage est de 23 % environ.

Le pEu des ligands L^1 et DTMA est déterminé, comme pour le complexe TbL^1 vu précédemment ; $pEu(L^1) = 7,5$ et $pEu(DTMA)^{[5]} = 13.3$. Même si les constantes de complexation des deux ligands avec l'ion $Eu(III)$ sont très proches, leur pEu sont, quant à eux, divergents d'un facteur 2. Le pEu, à la différence de la constante de complexation, tient compte des constantes d'acidité des ligands, et comme ces dernières sont différentes entre les deux ligands, notamment concernant les pKa_3 et pKa_4 (cf. tableau 4.1 dans IV.1.1 *Diagramme de distribution du complexe TbL^1 dans l'eau*), elles sont à l'origine des différences entre les pEu. D'après les valeurs des pEu, l'ajout de groupements

IV.1.2 Constante de stabilité du complexe EuL^1 à pH 6.5 dans Me_4NCl 0.1 M

phénacyle, de caractère électrophile, sur les bras du ligand DTMA augmente l'acidité des amines cycliques et diminue l'effet de coordination du ligand avec l'ion Eu(III) .

Le ligand DTPA est une référence dans le domaine des analyses biomédicales. Son pEu est égal à 19.1^[6], cette valeur est 2.6 fois plus élevée que le pEu du ligand L^1 , qui a donc un pouvoir coordinant plus faible, mais suffisant pour que le complexe puisse être introduit dans un milieu biologique.

Les coefficients d'absorption molaires calculés par le logiciel Specfit sont de $39700 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ à 40650 cm^{-1} (246 nm) pour L^1 et de $44600 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ à 40322 cm^{-1} (248 nm) pour $[\text{Eu}(\text{L}^1)]^{3+}$ (Figure 4.12). L'erreur entre ces valeurs et celles déterminées expérimentalement est de 5.5 % pour L^1 et de 11 % pour $[\text{Eu}(\text{L}^1)]^{3+}$, ce qui semble acceptable pour la détermination d'une telle grandeur.

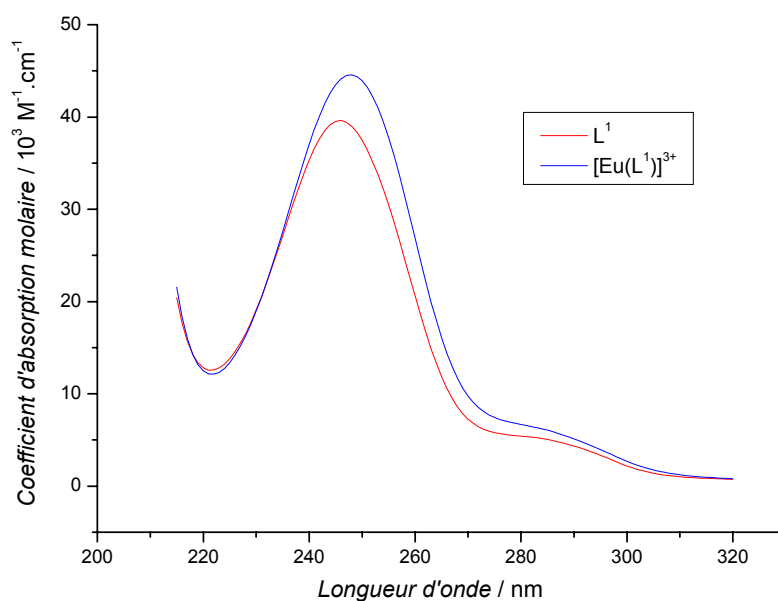


Figure 4.12: coefficients d'absorption molaires du ligand L^1 et du complexe $[\text{Eu}(\text{L}^1)]^{3+}$ recalculés.

La figure 4.13 représente les concentrations des espèces en solution, calculées par le logiciel Specfit.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

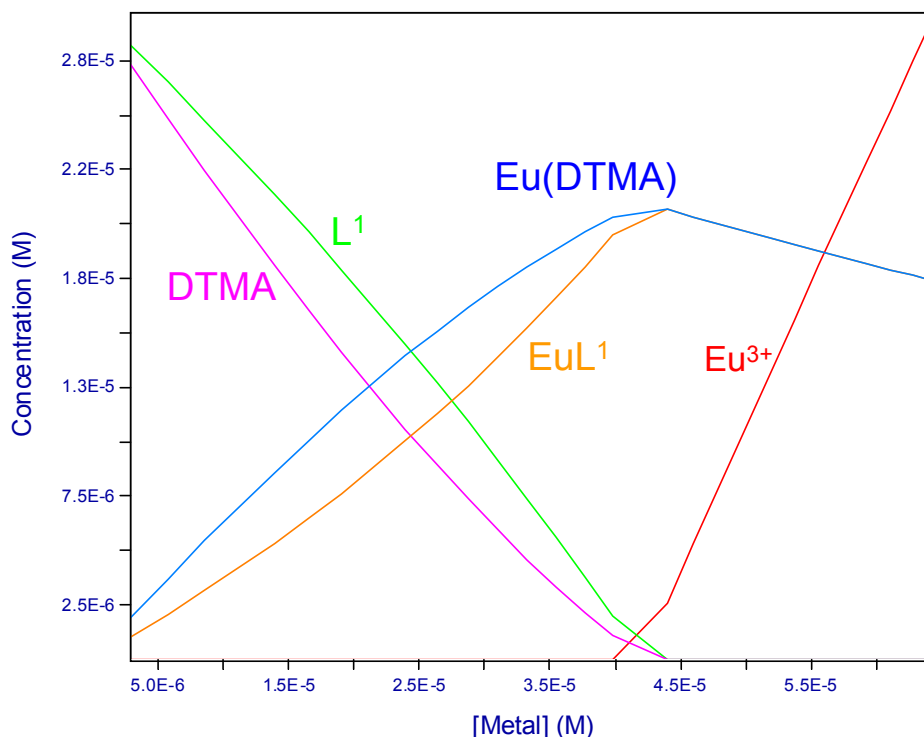


Figure 4.13: diagramme de concentration des espèces Eu^{3+} , L^1 , DTMA, $[Eu(L^1)]^{3+}$ et $[Eu(DTMA)]^{3+}$ en fonction de la concentration en métal ajouté.

La concentration des ligands L^1 et DTMA diminue au début du titrage jusqu'au point d'équivalence ($[Eu(III)] = 4.10^{-5}$ M), traduisant leur coordination au métal, avec une diminution légèrement plus forte pour DTMA. Ceci est confirmé par la quantité en complexes $[Eu(L^1)]^{3+}$ et $[Eu(DTMA)]^{3+}$ qui augmente de manière complémentaire à la diminution de celle en ligands jusqu'au point d'équivalence. La quantité en ion $Eu(III)$ libre est nulle jusqu'au point d'équivalence, traduisant sa complexation tout au long du titrage, puis elle augmente une fois ce point dépassé. De manière générale, on remarque que le complexe $[Eu(DTMA)]^{3+}$ se forme en plus grande quantité que le complexe $[Eu(L^1)]^{3+}$, révélant que la constante de stabilité du ligand compétiteur est plus grande que celle du ligand étudié.

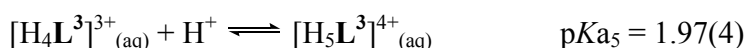
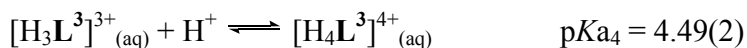
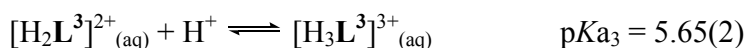
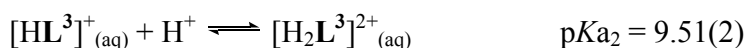
IV.1.3 Diagramme de distribution du complexe TbL^3 dans l'eau

Nous avons dans un premier temps déterminé les constantes d'acidité du ligand L^3 dans Me_4NCl 0.1 M par potentiométrie. Ce qui nous a permis, dans un second temps, d'élaborer le diagramme de distribution du complexe $[\text{Tb}(\text{L}^3)]^{3+}$ dans Me_4NCl 0.1 M, ainsi que sa constante de complexation, par titrage UV-vis.

IV.1.3.1 Constantes d'acidité du ligand L^3

Une solution aqueuse de Me_4NCl 0.1 M contenant le ligand L^3 à une concentration de $1.018 \cdot 10^{-3}$ M, et dont le pH avait été ajusté à 1.5 par HCl , a été titrée par NaOH 0.1 M. La courbe $\text{pH} = f(V_{\text{NaOH}})$ a été ainsi tracée et les valeurs des constantes d'acidité ont été estimées à l'aide du logiciel Hyperquad 2000.

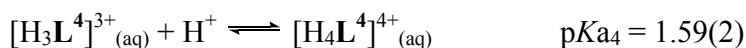
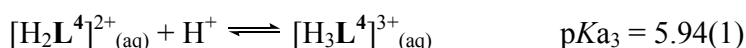
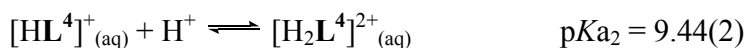
Le traitement des données a convergé vers la détermination de cinq constantes d'acidité, qui indiquent l'existence de six espèces, selon les équilibres de protonation suivants :



L'erreur expérimentale relative lors du titrage est de 4 % environ.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

Un autre ligand, nommé L^4 et se différenciant du ligand L^3 par une fonction ester méthylique à la place de la fonction acide, a été titré par potentiométrie afin de déterminer ses constantes d'acidité. Les résultats ont donné les quatre valeurs suivantes :



L'erreur expérimentale relative lors du titrage est de 4 % environ.

Les valeurs des constantes d'acidité des ligands L^1 , L^3 et L^4 sont reprises dans le tableau 4.2.

Tableau 4.2 : constantes d'acidité des ligands L^1 , L^3 et L^4 dans Me_4NCl 0.1 M.

Ligand \ pK_{a_i}	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}	pK_{a4}	pK_{a5}
L^1	12.2(2)	9.2(3)	6.4(4)		5.3(3)
L^3	11.42(1)	9.51(2)	5.65(2)	4.49(2)	1.97(4)
L^4	11.25(1)	9.44(2)	5.94(1)		1.59(2)

Les valeurs des constantes d'acidité du ligand L^4 sont proches de celles du ligand L^3 . On distingue ainsi facilement que la constante de protonation de la fonction acide du ligand L^3 est donnée par la valeur du pK_{a4} , et que les quatre autres valeurs de pK_a correspondent aux constantes de protonation des quatre amines cycliques.

Les valeurs obtenues pour le ligand L^3 sont proches de celles du ligand L^1 , sauf celle du pK_{a5} du ligand L^3 , qui est de 1.97, alors que celle du pK_{a4} du ligand L^1 est de 5.3. La valeur du pK_{a5} du ligand L^3 est du même ordre de grandeur que celui de composés

IV.1.3 Diagramme de distribution du complexe TbL^3 dans l'eau

comme le ligand DTMA, qui a pour valeur de pK_{a4} 1.56, alors que le ligand DOTA a pour valeur de pK_{a4} 4.19, qui est plus proche de la valeur du pK_{a4} du ligand L^1 .^[1, 2]

Le diagramme de distribution correspondant aux constantes d'acidité du ligand L^3 est représenté en figure 4.14.

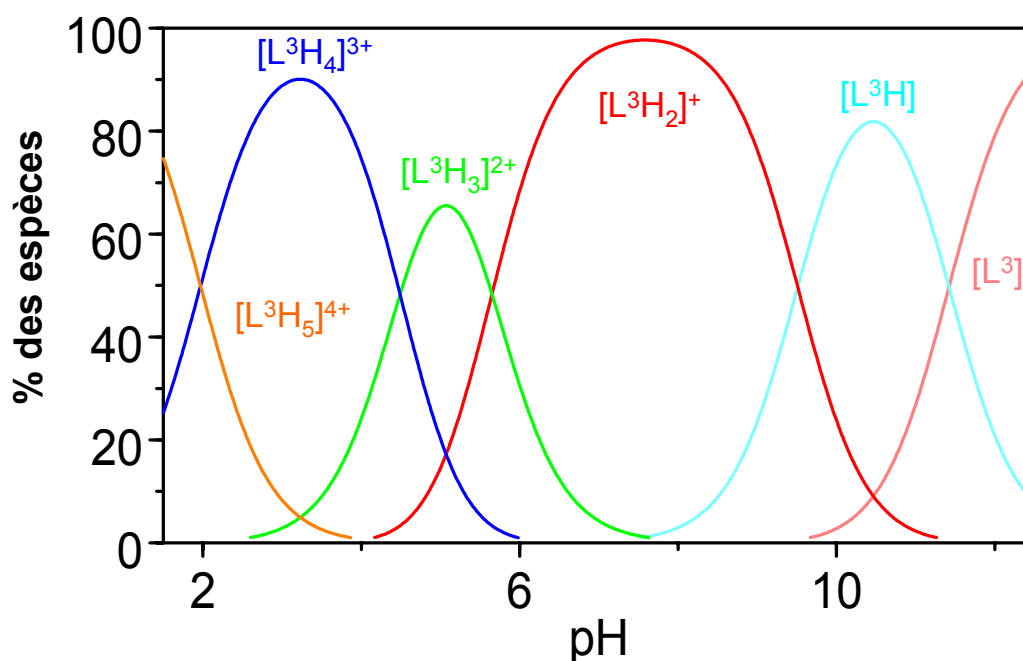


Figure 4.14 : diagramme de distribution du ligand L^3 .

IV.1.3.2 Constantes d'acidité, constante de complexation et diagramme de distribution du complexe TbL^3

Les constantes d'acidité du complexe TbL^3 ainsi que sa constante de complexation absolue ont été déterminés par titrage UV-vis en fonction du pH, de manière identique au complexe TbL^1 (cf. IV.1.1 diagramme de distribution du complexe TbL^1 dans l'eau).

La figure 4.15 présente les spectres du titrage UV-vis.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

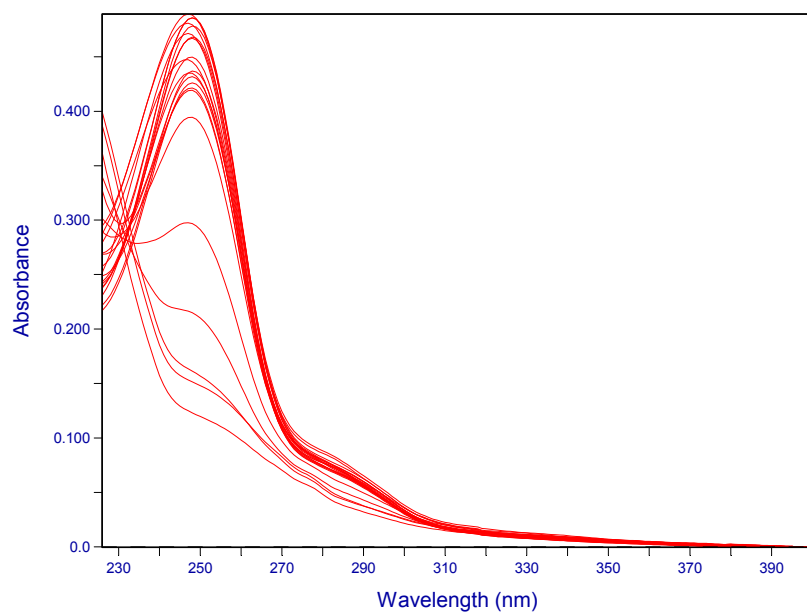


Figure 4.15: spectres UV-vis de l'absorbance du complexe TbL^3 dans Me_4NCl 0.1 M en fonction du pH.

L'analyse factorielle indique l'existence de six espèces :

#	Eigenvalue	Square Sum	Residual	Prediction
1	9.998E+01	1.529E+00	1.993E-02	Data Vector
2	1.496E+00	3.316E-02	2.936E-03	Data Vector
3	2.442E-02	8.742E-03	1.507E-03	Data Vector
4	6.155E-03	2.588E-03	8.202E-04	Data Vector
5	1.734E-03	8.536E-04	4.712E-04	Data Vector
6	4.117E-04	4.419E-04	3.390E-04	Data Vector
7	2.045E-04	2.374E-04	2.485E-04	Possibly Data
8	9.142E-05	1.460E-04	1.949E-04	Probably Noise
9	4.773E-05	9.826E-05	1.599E-04	Probably Noise

Dans ce modèle, nous avons considéré l'existence de trois espèces correspondant au complexe et trois autres correspondant au ligand.

IV.1.3 Diagramme de distribution du complexe TbL^3 dans l'eau

Les calculs convergent vers un résultat satisfaisant, avec des erreurs relativement faibles :

[SPECIES]	[FIXED]	[PARAMETER]	[ERROR]
1 0 0	True	0.00000E+00	+/- 0.00000E+00
0 1 0	True	0.00000E+00	+/- 0.00000E+00
0 1 1	True	1.14200E+01	+/- 0.00000E+00
0 1 2	True	2.09400E+01	+/- 0.00000E+00
0 1 3	True	2.65800E+01	+/- 0.00000E+00
0 1 4	True	3.10700E+01	+/- 0.00000E+00
0 1 5	True	3.30400E+01	+/- 0.00000E+00
1 1 -1	False	8.40288E+00	+/- 9.95633E-02
1 1 0	False	1.78119E+01	+/- 5.46238E-02
1 1 1	False	2.35597E+01	+/- 6.47581E-02

$$\sigma = 1.272 \cdot 10^{-2}$$

L'erreur expérimentale relative lors du titrage est de 19 % environ.

Les coefficients d'absorption molaires ont été recalculés (figure 4.16).

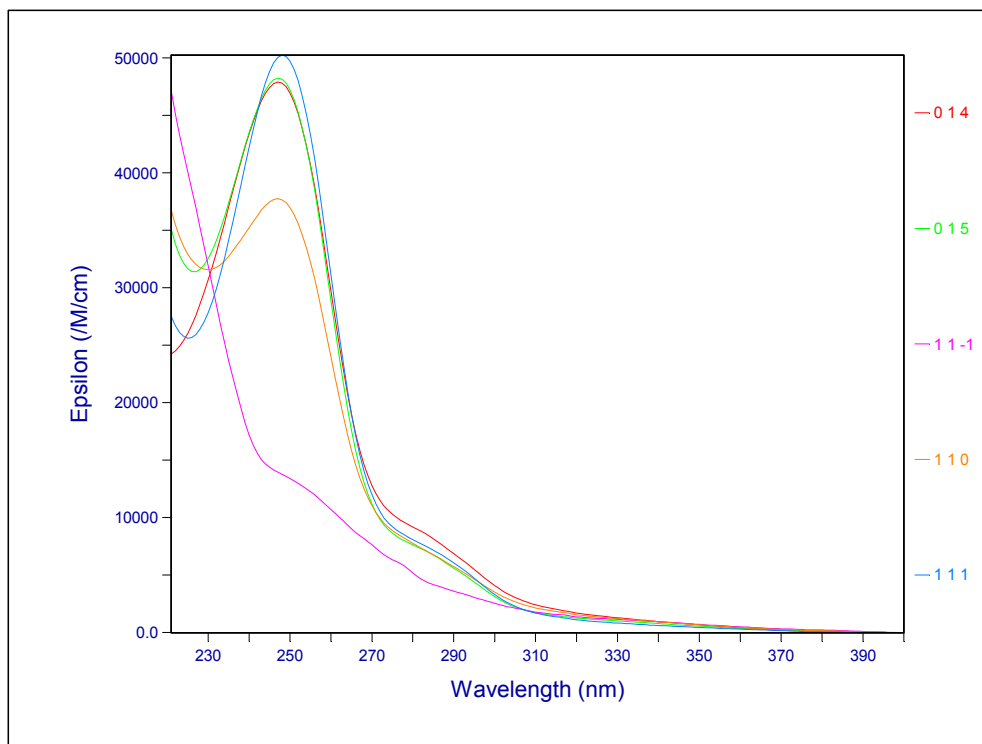


Figure 4.16 : coefficients d'absorption molaires des espèces $[L^3(H)_5]^{4+}$, $[L^3(H)_4]^{3+}$, $[Tb(L^3)(H)]^{4+}$, $[Tb(L^3)]^{3+}$ et $[Tb(L^3)(OH)]^{2+}$ recalculés, les autres espèces sont en concentrations négligeables.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

De nombreux autres modèles ont été testés en parallèle avec celui présenté ci-dessus, mais le traitement des données a abouti à des résultats moins intéressants. Les trois modèles présentés ci-dessous ont tout de même fourni des résultats relativement satisfaisants. Le premier comporte deux espèces du complexe, et les meilleurs résultats de ce type de modèle ont été obtenus avec les espèces $[TbL^3]^{3+}$ et $[TbL^3(H)]^{4+}$. Le deuxième comporte trois espèces du complexe, à savoir les espèces $[TbL^3]^{3+}$, $[TbL^3(H)]^{4+}$ et $[TbL^3(H)_2]^{5+}$. Enfin, le troisième comporte quatre espèces du complexe, à savoir les espèces $[Tb(L^3)(OH)]^{2+}$, $[TbL^3]^{3+}$, $[TbL^3(H)]^{4+}$ et $[TbL^3(H)_2]^{5+}$.

Le traitement des données avec ces deux modèles a abouti aux résultats suivants :

Premier modèle :

[SPECIES]	[FIXED]	[PARAMETER]	[ERROR]
1 0 0	True	0.00000E+00	+/- 0.00000E+00
0 1 0	True	0.00000E+00	+/- 0.00000E+00
0 1 1	True	1.14200E+01	+/- 0.00000E+00
0 1 2	True	2.09400E+01	+/- 0.00000E+00
0 1 3	True	2.65800E+01	+/- 0.00000E+00
0 1 4	True	3.10700E+01	+/- 0.00000E+00
0 1 5	True	3.30400E+01	+/- 0.00000E+00
1 1 0	False	1.49184E+01	+/- 4.06115E-01
1 1 1	False	2.49724E+01	+/- 4.05421E-01

$$\sigma = 2,099.10^{-2}$$

Deuxième modèle :

[SPECIES]	[FIXED]	[PARAMETER]	[ERROR]
1 0 0	True	0.00000E+00	+/- 0.00000E+00
0 1 0	True	0.00000E+00	+/- 0.00000E+00
0 1 1	True	1.14200E+01	+/- 0.00000E+00
0 1 2	True	2.09400E+01	+/- 0.00000E+00
0 1 3	True	2.65800E+01	+/- 0.00000E+00
0 1 4	True	3.10700E+01	+/- 0.00000E+00
0 1 5	True	3.30400E+01	+/- 0.00000E+00
1 1 0	False	1.63967E+01	+/- 6.13887E-01
1 1 1	False	2.68852E+01	+/- 6.04233E-01
1 1 2	False	3.47580E+01	+/- 6.05555E-01

IV.1.3 Diagramme de distribution du complexe TbL^3 dans l'eau

$$\sigma = 1,895.10^{-2}$$

Troisième modèle :

[SPECIES]	[FIXED]	[PARAMETER]	[ERROR]
1 0 0	True	0.00000E+00	+/- 0.00000E+00
0 1 0	True	0.00000E+00	+/- 0.00000E+00
0 1 1	True	1.14200E+01	+/- 0.00000E+00
0 1 2	True	2.09400E+01	+/- 0.00000E+00
0 1 3	True	2.65800E+01	+/- 0.00000E+00
0 1 4	True	3.10700E+01	+/- 0.00000E+00
0 1 5	True	3.30400E+01	+/- 0.00000E+00
1 1 -1	False	5.50312E+00	+/- 5.92800E-01
1 1 0	False	1.60144E+01	+/- 5.89582E-01
1 1 1	False	2.33593E+01	+/- 6.17686E-01
1 1 2	False	2.98971E+01	+/- 5.42688E-01

$$\sigma = 1,779.10^{-2}$$

Pour les trois modèles présentés ci-dessus, les erreurs sur les valeurs des $\log(\beta)$ et la valeur de σ sont plus élevées que pour le modèle choisi.

Les équilibres et leurs constantes, correspondant au modèle choisi sont donnés ci-dessous :



Le pTb est également déterminé, comme pour le complexe TbL^1 vu précédemment.
 $pTb(L^3) = 12.6$

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

Le pTb du ligand L^3 est égal à 12.6, et celui ligand L^1 est plus faible, égal à 9.4 (cf. IV.1.1 *Diagramme de distribution du complexe TbL^1 dans l'eau*). Ceci peut être dû au fait que la fonction acide du ligand L^3 , située à l'extrémité du quatrième bras, se replie sur le métal, chargé positivement, complétant ainsi sa sphère de coordination, ce qui renforce les liaisons entre le métal et le ligand.

$pTb(DTMA)^{[6]} = 19.5$; cette valeur est respectivement environ 2 fois et 1.5 fois plus élevée que le pTb des ligands L^1 et L^3 , qui ont donc un pouvoir coordinant plus faible. Néanmoins, le complexe TbL^1 est suffisamment thermodynamiquement stable pour être introduit dans un milieu biologique.

Par ailleurs, les deux complexes présentent chacun trois espèces différentes en solution, à savoir une espèce hydroxylée, une espèce monoprotonée et une espèce neutre. Les données calculées précédemment amènent au diagramme de distribution représenté figure 4.17.

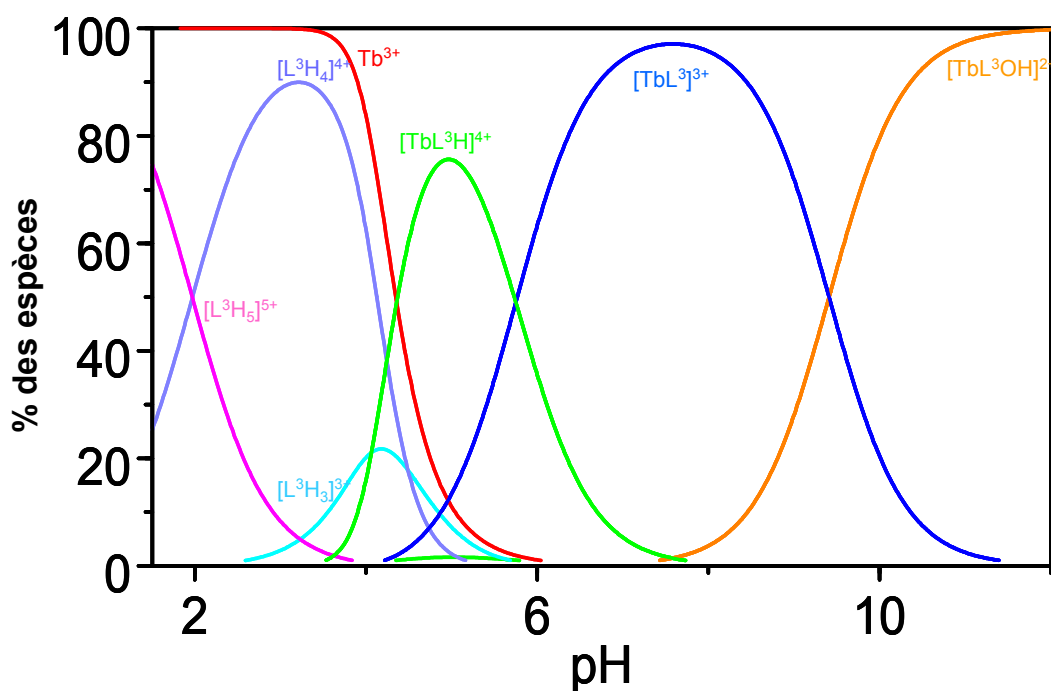


Figure 4.17: diagramme de distribution du complexe TbL^3 dans Me_4NCl 0.1 M.
 $[Tb^{3+}] = [L^3] = 1.10^{-5}$ M.

IV.1.3 Diagramme de distribution du complexe TbL^3 dans l'eau

D'après ce diagramme, le complexe TbL^3 se présente sous la forme neutre entre les pH 7 et 8.5, et il y est l'espèce majoritaire. A pH plus élevé, il se forme l'espèce hydroxylée. Pour ce qui est de la gamme de pH acide, le complexe se protone dès le pH 7, puis se décomplexé partiellement en-dessous du pH 5 pour l'être totalement en-dessous du pH 4. On est alors en présence du ligand libre bi-, tri- et tétraprotoné.

La différence la plus intéressante avec le complexe TbL^1 est qu'à pH 7, la forme principale du complexe TbL^3 contient le ligand neutre alors que l'espèce monoprotonée prédomine pour le complexe TbL^1 (figures 4.8 et 4.17). Elle est à nouveau due à la présence de la fonction acide sur le complexe TbL^3 qui influence les équilibres de protonation du complexe.

IV.2 Photophysique

Les propriétés thermodynamiques développées dans la partie précédente nous indiquent que les complexes formés avec les ligands L^1 et L^3 sont suffisamment stables en solution aqueuse pour les utiliser dans les applications biomédicales. Nous allons maintenant développer l'aspect photophysique des ligands et des complexes afin d'en déduire si les complexes EuL^3 et TbL^3 sont, de ce point de vue également, adaptés pour ce type d'application.

L'étude des complexes EuL^3 et TbL^3 à l'état solide est abordée. Elle nous informe sur la géométrie de coordination des complexes, à défaut d'une structure par rayons X à l'état solide. Elle est suivie de la caractérisation des composés en solution, nous indiquant leurs principales propriétés photophysiques, qui vont être discutées, notamment afin de déduire les conséquences que provoque le remplacement d'un bras au sein du ligand L^1 , sur la luminescence des complexes. Enfin, l'étude du transfert d'énergie depuis les complexes EuL^2 , EuL^3 et TbL^3 vers l'accepteur Cy5 donne une vision appliquée à cette étude.

IV.2.1 Luminescence à haute résolution des complexes EuL^3 et TbL^3 à l'état solide

Nous avons réalisé cette étude afin d'obtenir des informations sur la géométrie des complexes et sur l'environnement des métaux au sein de leur sphère de coordination. Le complexe EuL^3 a été caractérisé de manière courante, au moyen des spectres d'excitation et d'émission, une étude plus détaillée nous a permis de distinguer deux sites de coordination au sein du métal, les temps de vie du complexe ont été mesurés et comparés à ceux du complexe EuL^1 . Le complexe TbL^3 a également été caractérisé et comparé au complexe TbL^1 .

IV.2.1.1 Caractérisation générale du complexe EuL³

Les raies d'émission de l'ion Eu(III) sont très sensibles à l'environnement du métal. L'interprétation des spectres d'émission et d'excitation du complexe EuL³ ainsi que leur comparaison avec ceux du complexe EuL¹, réalisés auparavant par G. Zucchi,^[7] nous ont indiqué si le ligand ayant un bras fonctionnalisé était différemment complexé par le métal ou non, en comparaison au ligand portant quatre bras identiques.

La figure 4.18 représente le spectre d'excitation du complexe EuL³ à 10 K et 295 K par analyse de la transition $^5D_0 \leftarrow ^7F_2$. Ces spectres nous ont permis de déterminer l'énergie de l'état singulet du ligand au sein du complexe ; elle se situe vers 27000 cm^{-1} (370 nm).

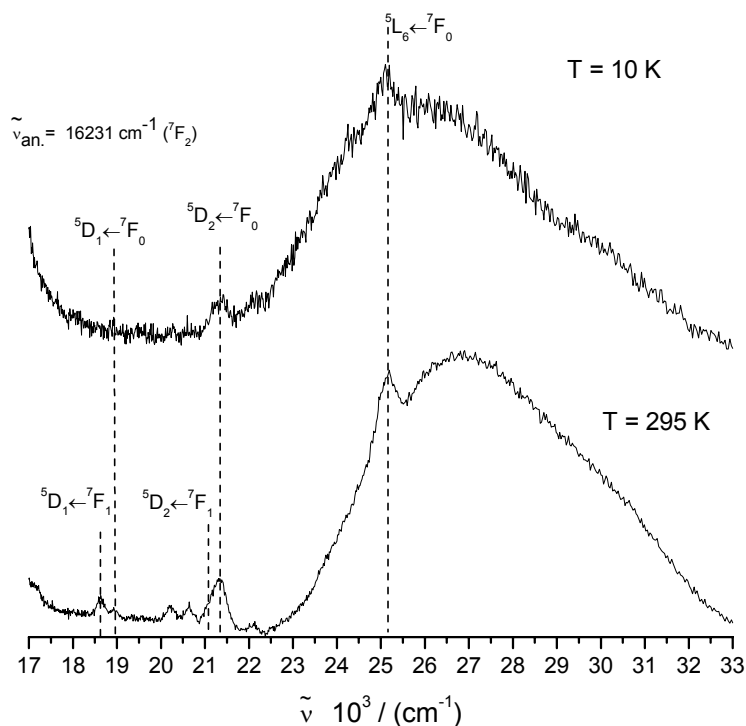


Figure 4.18 : spectres d'excitation du complexe EuL³ à 10K et 295 K ($\nu_{\text{an}} = 16231 \text{ cm}^{-1}$, 616 nm).

Le spectre d'émission du complexe EuL³, à 10 K et 295 K, est présenté figure 4.19. L'énergie d'excitation est de 28169 cm^{-1} (355 nm), ce qui correspond à l'excitation du

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

ligand. Ces deux spectres sont très semblables, les bandes obtenues à 295 K étant plus larges à cause des vibrations de la molécule. Par ailleurs, on observe à température ambiante l'apparition des bandes d'excitation à partir du niveau 7F_1 , dont la population à cette température est d'environ 19 %.

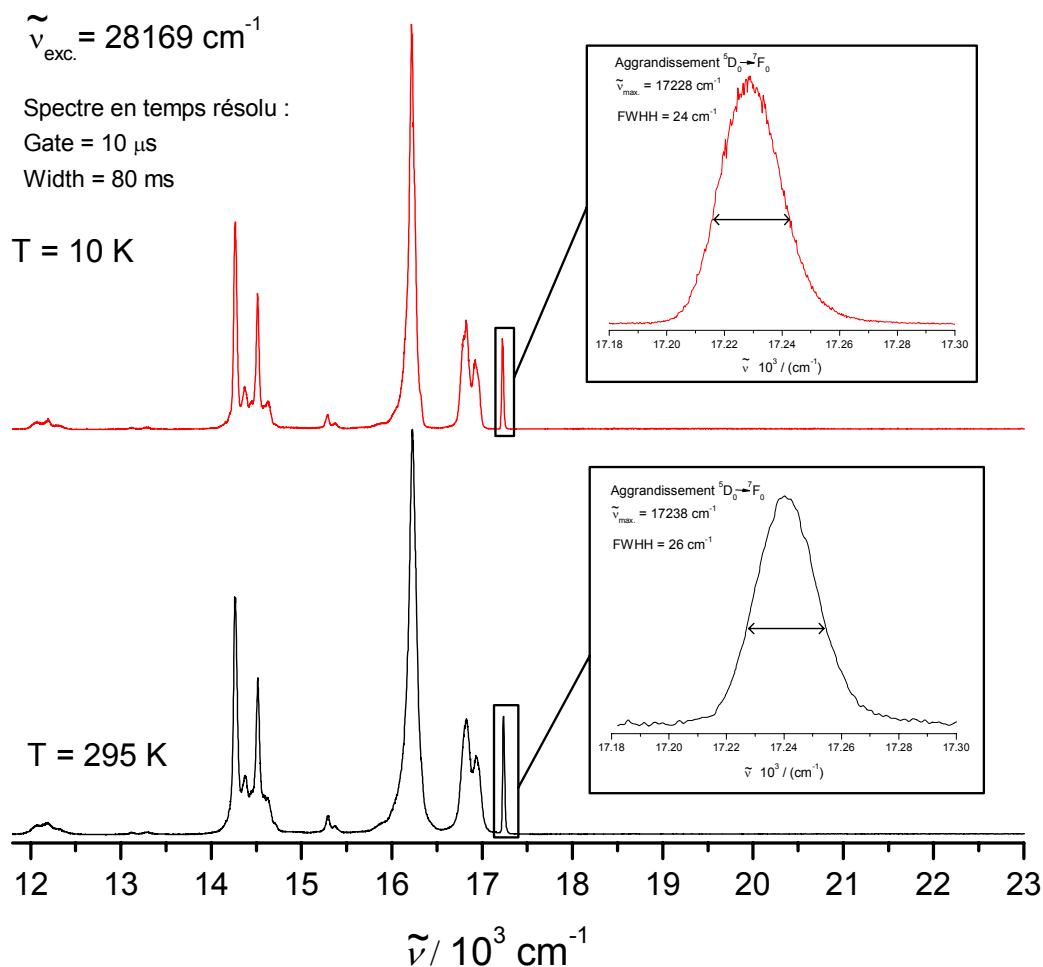


Figure 4.19 : spectres d'émission du complexe EuL^3 après excitation sur le ligand, à 10 K et 295 K.

La transition $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$ est unique, mais légèrement asymétrique vers les hautes énergies, et large (25 cm^{-1} aux deux températures), ce qui est l'indicateur d'une possible distribution de sites avec un environnement très proche. Les transitions $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$ et $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ ont une intensité relative importante, ce qui suggère une symétrie de type C_4

IV.2.1 Luminescence à haute résolution des complexes EuL3 et TbL3 à l'état solide

ou C_{4v} (tableau 4.3). Le complexe EuL^1 présente le même type de symétrie, et les intensités de ses transitions $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$ et $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ sont du même ordre de grandeur. La transition $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ forme un doublet à 295 K, mais la bande située à 16824 cm^{-1} semble se dédoubler à 10 K. Sa forme générale correspond à un éclatement de type A + E du niveau 7F_1 .

Tableau 4.3 : intensités relatives des transitions $^5D_0 \rightarrow ^7F_{0-4}$ de l'ion Eu(III) dans les complexes EuL^3 et EuL^1 à l'état solide (10 K).

Complexe	\int_{0-0}	\int_{0-1}	\int_{0-2}	\int_{0-3}	\int_{0-4}
EuL^3	0.15	1.00	2.40	0.07	1.40
EuL^1 [8]	0.10	1.00	3.27		1.80

Tableau 4.4 : position des transitions de l'ion Eu(III).

Zone	$\tilde{\nu}_{\max} / \text{cm}^{-1}$ 10 K	$\Delta (^7F_0-^7F_j)$	$\tilde{\nu}_{\max} / \text{cm}^{-1}$ 295 K	$\Delta (^7F_0-^7F_j)$
$^5D_0 \rightarrow ^7F_0$	17227	0	17240	0
$^5D_0 \rightarrow ^7F_1$	16926	301	16938	302
	16824	403	16821	419
$^5D_0 \rightarrow ^7F_2$	16218	1009	16226	1014
$^5D_0 \rightarrow ^7F_3$	15366	1861	15370	1870
	15291	1936	15298	1942
$^5D_0 \rightarrow ^7F_4$	14622	2605	14613	2627
	14514	2713	14516	2724
	14440	2787	14376	2864
	14372	2855		
	14265	2962	14263	2977
$^5D_0 \rightarrow ^7F_5$	13287	3940	13284	3956
	13122	4105	13115	4125
$^5D_0 \rightarrow ^7F_6$	12287	4940	12287	4953
	12192	5035	12174	5066
	12067	5160	12064	5176

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

Le spectre d'émission du complexe $\text{Eu}L^3$, à 10 K et 295 K, après excitation sur le métal, à 21468 cm^{-1} (transition $^5D_2 \leftarrow ^7F_0$), est présenté figure 4.20. Les transitions ont la même forme et la même intensité que pour le spectre d'émission après excitation sur le ligand, que ce soit à 10 K ou à 295 K.

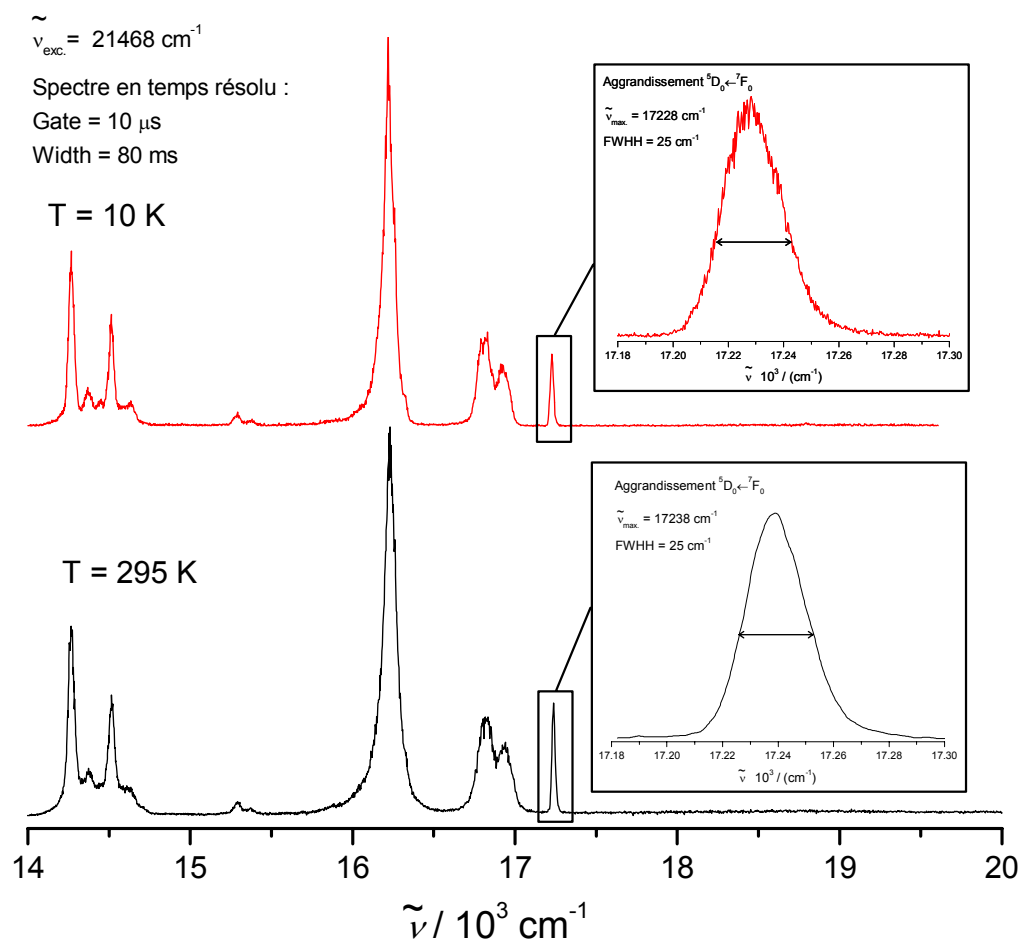


Figure 4.20 : spectres d'émission du complexe $\text{Eu}L^3$ après excitation sur le métal, à 10 K et 295 K.

IV.2.1.2 Etude détaillée des sites de coordination

Une analyse à haute résolution de la bande d'excitation de la transition $^5D_0 \leftarrow ^7F_0$ (figures 4.21 et 4.22) a été effectuée afin de déterminer si le composé comporte plusieurs sites de coordination ou non. Les spectres d'excitation de la transition $^5D_0 \leftarrow ^7F_0$ enregistrés en analysant l'ensemble des transitions $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ et $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$, mettent en évidence la présence de deux sites de coordination, notés sites I et II. Ces deux sites ont été différenciés par l'analyse sélective (bande passante du laser plus étroite) de la transition $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$, à 16935 cm^{-1} pour le site I et à 16992 cm^{-1} pour le site II, à 10 K, où les vibrations de la molécule ne perturbent pas la forme des bandes d'excitation comme c'est le cas pour les mesures à 295 K. Le maximum d'excitation du site I se situe à 17226 cm^{-1} et celui du site II à 17242 cm^{-1} , pour les mesures à 10 K.

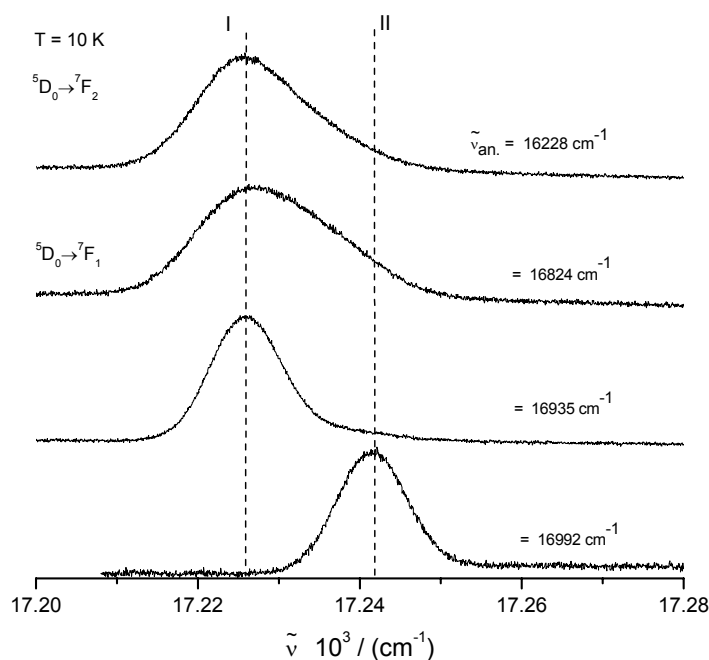


Figure 4.21 : spectres d'excitation de la transition $^5D_0 \leftarrow ^7F_0$ à 10 K.
a) analyse globale sur la transition $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$; b) analyse globale de la transition $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$; c) et d) analyse sélective de la transition $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

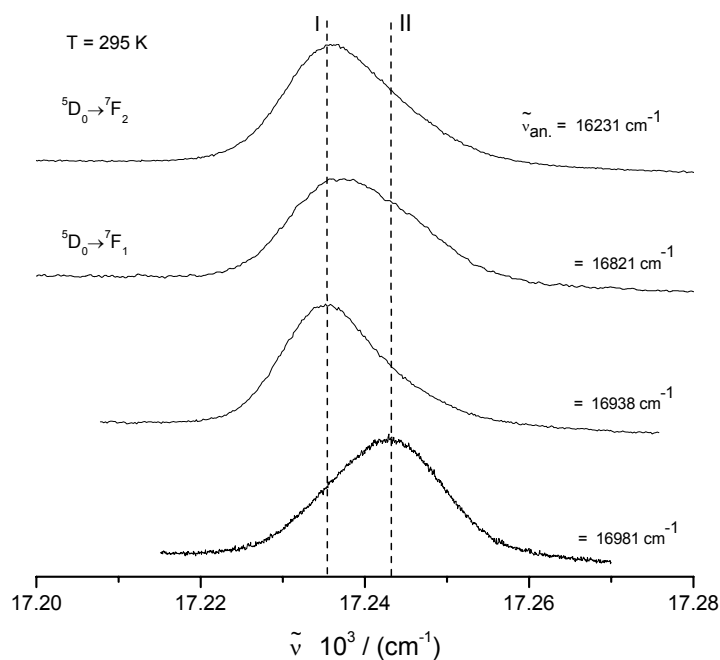


Figure 4.22 : spectres d'excitation de la transition ${}^5D_0 \leftarrow {}^7F_0$ à 295 K.
a) analyse globale sur la transition ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$; b) analyse globale de la transition ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$; c) et d) analyse sélective de la transition ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$.

Les spectres d'émission du métal, après excitation sélective des deux sites de coordination du niveau 5D_0 , sont représentés en figure 4.23, à 10 K et 295 K, ainsi que ceux après excitation sur le ligand et sur le niveau 5D_2 .

Dans l'ensemble, les spectres sont très semblables, quelque soit le mode d'excitation, sur le ligand, sur le niveau 5D_2 , ou sur le niveau 5D_0 du site I.

IV.2.1 Luminescence à haute résolution des complexes EuL3 et TbL3 à l'état solide

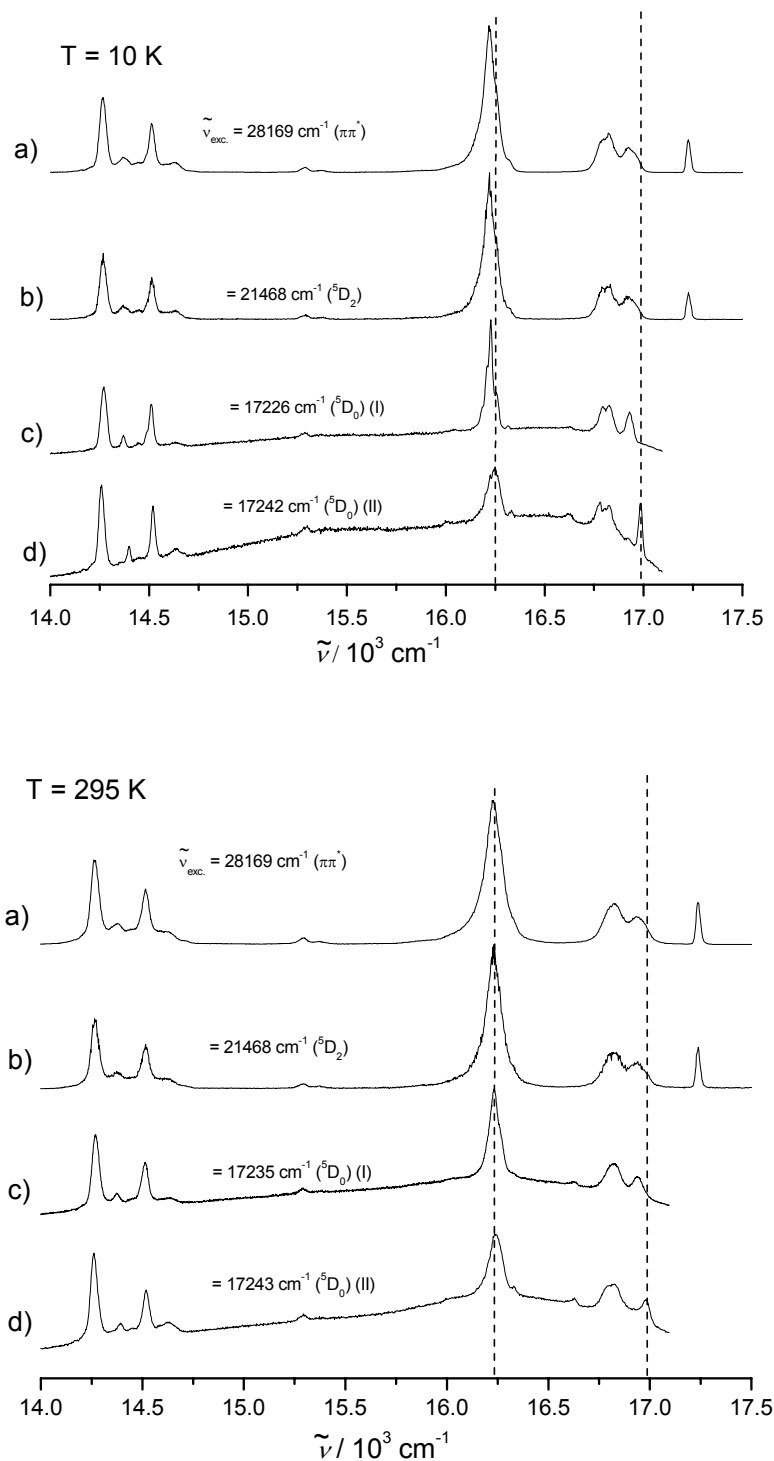


Figure 4.23 : spectres d'émission du métal après excitation sur a) le ligand b) le niveau 5D_2 du métal c) sur le site I du niveau 5D_0 d) sur le site II du niveau 5D_0 .

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

L'intégration des bandes d'émission de la transition $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ nous a permis de déterminer les proportions des espèces correspondant aux sites I et II. En effet, la courbe bleue (figure 4.24) représente l'émission totale des deux sites, la courbe rouge celle du site I uniquement, et la courbe verte celle du site II uniquement.

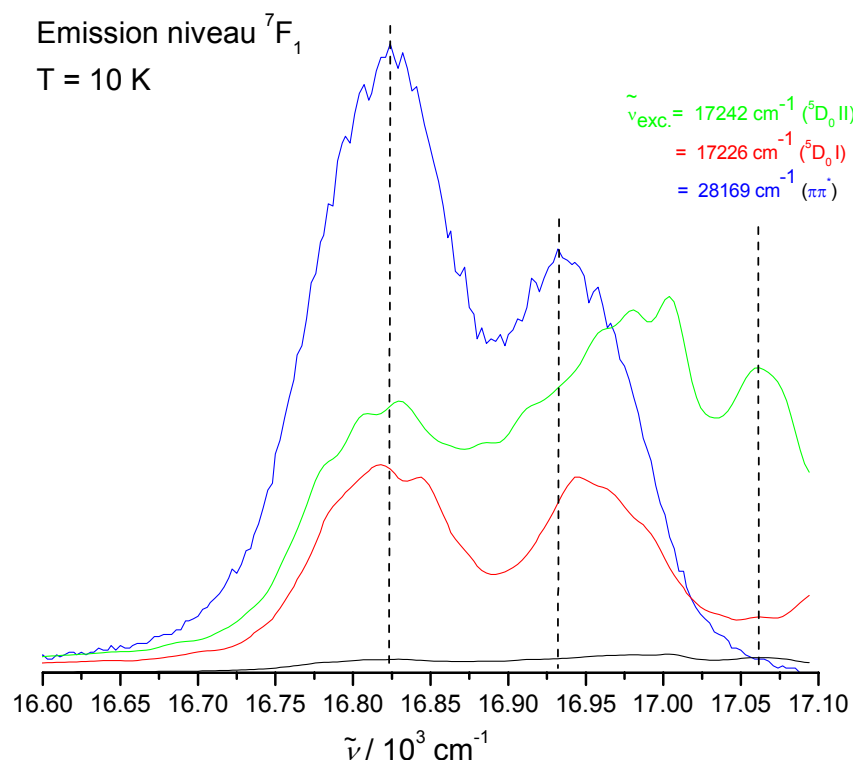


Figure 4.24 : spectres d'émission de la transition $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ enregistrés sous diverses conditions d'excitation.

Si l'on reporte la hauteur du pic de la courbe verte situé vers 17065 cm^{-1} au niveau de la ligne de base de la courbe bleue, on obtient alors la courbe noire, de très faible intensité, qui représente au maximum 3 % de la surface totale de la courbe bleue. Ainsi, l'espèce correspondant au site II est en très faible quantité par rapport à celle correspondant au site I.

D'autre part, on observe lors de l'excitation du site II la luminescence de l'espèce correspondant au site I à 16825 cm^{-1} . Comme le niveau 5D_0 (site II) est supérieur en

IV.2.1 Luminescence à haute résolution des complexes EuL3 et TbL3 à l'état solide

énergie par rapport au niveau $^5\text{D}_0$ (site I), on en déduit l'existence d'un transfert d'énergie site I \rightarrow site II.

Concernant la symétrie de ce site par rapport au site I, nous faisons les constatations suivantes. La bande d'émission de la transition $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_1$, située à 16984 cm^{-1} à 10 K, après excitation sélective du site II du niveau $^5\text{D}_0$ est décalée par rapport aux bandes d'émission des autres spectres. De plus, la bande de la transition $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$, située à 16250 cm^{-1} à 10 K, est de plus faible intensité, et se rapproche de celle du complexe EuL^1 (figure 4.25).^[7]

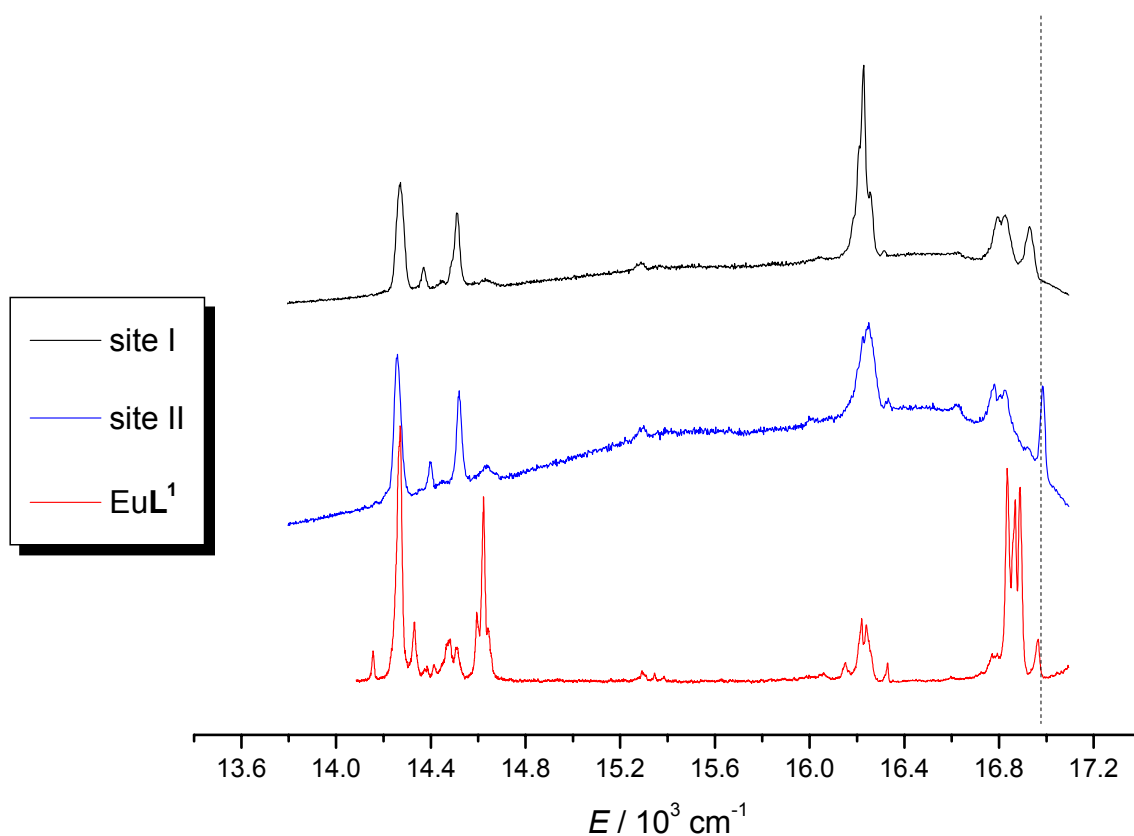


Figure 4.25 : spectres d'émission des sites I et II du niveau $^5\text{D}_0$ dans le complexe EuL^3 et du niveau $^5\text{D}_0$ dans le complexe EuL^1 (10 K).

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

Nous avons deux hypothèses quant à l'identité des deux espèces distinguées :

- il peut exister un possible équilibre au sein de la sphère de coordination du métal, entre une molécule d'eau et la fonction acide carboxylique du bras fonctionnalisé. Les espèces correspondant aux sites I et II seraient le complexe EuL^3 où le métal se trouve dans ces deux modes de coordination. La fonction carboxylique étant très coordinante par rapport à la molécule d'eau, la géométrie du complexe serait sensiblement changée, ce que l'on observe avec la forme des bandes d'émission des deux sites,
- ou bien, il peut exister un possible équilibre entre deux isomères du ligand L^3 . En effet, le cycle peut adopter deux conformations différentes, et les bras peuvent également « s'enrouler » de deux manières différentes.^[9, 10] L'échange des bras étant plus rapide que celui du cycle lorsque l'atome de carbone situé en position α de l'atome d'azote cyclique n'est pas substitué,^[11] le second serait le plus facilement observable. Une étude du complexe en solution par RMN nous éclairerait sur le sujet.

IV.2.1.3 Temps de vie des complexes EuL^3 et EuL^1

Les déclins de luminescence du complexe EuL^3 sont monoexponentiels à toutes les températures, et les temps de vie qui en découlent sont relativement homogènes (tableau 4.5). A 295 K, les valeurs du temps de vie de l'ion Eu(III) sont égales à 0.94 ms en moyenne, quelles que soient l'énergie d'excitation ou la transition $^5D_0 \rightarrow ^7F_{1,2,4}$ observée. Le temps de vie de l'ion Eu(III) dans le complexe EuL^1 , à 295 K et après excitation sur le ligand, est de 1.26 ms, ce qui est 1.3 fois plus élevé que pour le complexe EuL^3 . A 77 K, la valeur du temps de vie de l'ion Eu(III) du complexe EuL^3 après excitation sur le ligand est plus grande qu'à 295 K, égale à 1.07 ms en moyenne, l'abaissement de la température éliminant l'effet des transitions vibroniques. Toujours à 77 K, le temps de vie de l'ion Eu(III) dans le complexe EuL^1 , après excitation sur le ligand, est de 1.10 ms, ce qui est presque identique au complexe EuL^3 . L'ensemble de ces données indique que le complexe EuL^3 subit plus de désactivations vibroniques que le complexe EuL^1 à 295 K, mais que la géométrie de la sphère de coordination des deux complexes est proche dans

IV.2.1 Luminescence à haute résolution des complexes EuL3 et TbL3 à l'état solide

leur globalité. Par ailleurs, à 10 K, le temps de vie du site II devrait être plus long dans l'absolu, mais il est perturbé par le transfert venant du site I, plus court.

Tableau 4.5 : temps de vie de Eu(III) dans le complexe EuL³.

T / K	$\tilde{\nu}_{exc.} / \text{cm}^{-1}$	$\tilde{\nu}_{an.} / \text{cm}^{-1}$	τ / ms
295	36232 (ligand)	16835 (⁷ F ₁)	0.96 ± 0.01
		16260 (⁷ F ₂)	0.93 ± 0.01
		14286 (⁷ F ₄)	0.94 ± 0.01
	17227 (⁵ D ₀) (I)	17227 (⁷ F ₁)	0.91 ± 0.00
		16228 (⁷ F ₂)	0.93 ± 0.02
		14271 (⁷ F ₄)	0.91 ± 0.00
	17241 (⁵ D ₀) (II)	16985 (⁷ F ₁)	0.93 ± 0.01
		16244 (⁷ F ₂)	0.97 ± 0.04
		14261 (⁷ F ₄)	0.94 ± 0.01
77	41152 (ligand)	25126 (³ ππ [*])	0.113 ± 0.00
		16863 (⁷ F ₁)	1.08 ± 0.01
		16260 (⁷ F ₂)	1.06 ± 0.01
		14286 (⁷ F ₄)	1.08 ± 0.01
10	17238 (⁵ D ₀) (I)	16821 (⁷ F ₁)	0.99 ± 0.01
		16236 (⁷ F ₂)	0.99 ± 0.01
		14269 (⁷ F ₄)	0.96 ± 0.01
	17247 (⁵ D ₀) (II)	16244 (⁷ F ₂)	1.05 ± 0.01
		14261 (⁷ F ₄)	1.04 ± 0.01

Le temps de vie de l'état triplet n'est pas mesurable à 295 K.

IV.2.1.4 Caractérisation générale du complexe TbL³

Les spectres d'excitation, réalisés à 77 K et à 295 K, ont permis de déterminer l'énergie du niveau singulet, se trouvant ainsi vers 29000 cm⁻¹ (figure 4.26).

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

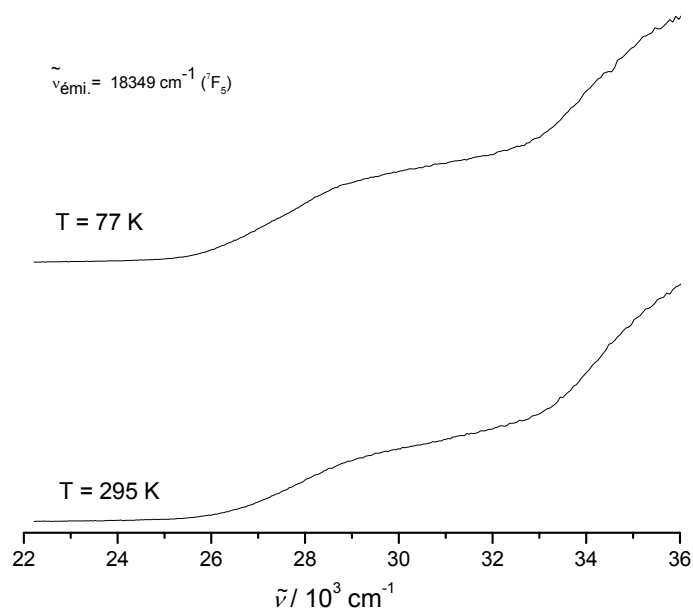
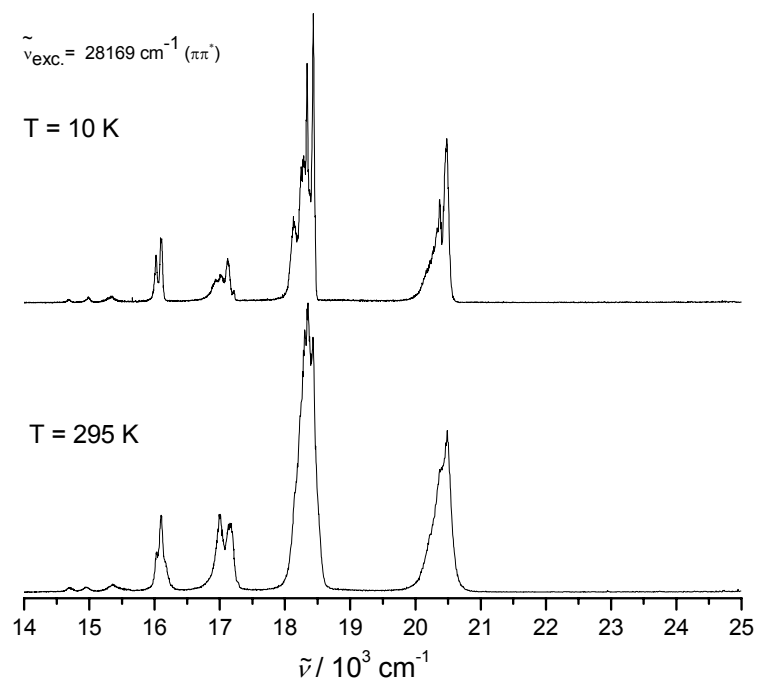


Figure 4.26 : spectres d'excitation de TbL^3 , à 77 K et 295 K.

Les bandes d'émission du complexe, après excitation sur le ligand, ont une forme légèrement différente entre 77 K et 295 K, due aux contributions vibroniques (figure 4.27). Elles sont semblables, pour une même température, que l'on excite la molécule sur le ligand ou sur le niveau 5D_4 du métal.

IV.2.1 Luminescence à haute résolution des complexes EuL3 et TbL3 à l'état solide

a)



b)

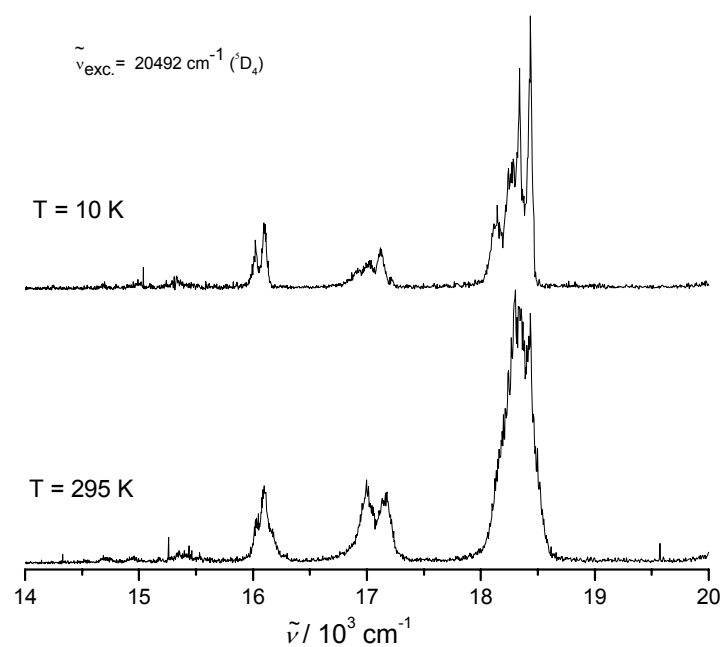


Figure 4.27 : spectres d'émission du complexe TbL^3 , à 10 K et 295 K
a) après excitation sur le ligand b) après excitation sur le niveau $^5\text{D}_4$.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

Les déclins de luminescence du complexe TbL^3 sont monoexponentiels aux deux températures (tableau 4.6). La valeur moyenne du temps de vie de l'ion $Tb(III)$ qui en découle est de 1.31 ms à 295 K et de 1.35 ms à 77 K, montrant qu'il n'y a pas de transfert en retour du métal vers le ligand. Les temps de vie de l'ion $Tb(III)$ dans le complexe TbL^1 , après excitation sur le ligand, est de 1.89 ms à 295 K et de 1.82 ms à 10 K, ce qui est respectivement 1.4 fois et 1.3 fois plus élevé que pour le complexe TbL^3 .^[7]

Tableau 4.6 : temps de vie de l'ion $Tb(III)$ dans le complexe TbL^3 .

T / K	$\tilde{\nu}_{exc.} / cm^{-1}$	$\tilde{\nu}_{an.} / cm^{-1}$	τ / ms
295	37736 (ligand)	20449 (7F_6)	1.29 ± 0.01
		18349 (7F_5)	1.32 ± 0.01
77	37878 ($\pi\pi^*$)	20534 (7F_6)	1.35 ± 0.03
		18382 (7F_5)	1.34 ± 0.01

IV.2.2 Caractérisation des complexes en solution

Cette partie décrit la détermination des niveaux d'énergie des ligands L^1 et L^3 dans les complexes de terbium, d'euprium et de lutécium, dans l'eau et l'acétonitrile, à 77 K et 295 K. Les temps de vie des complexes EuL^1 , EuL^3 , TbL^1 et TbL^3 également dans l'eau et l'acétonitrile, à 77 K et 295 K, et du nombre d'hydratation du complexe TbL^3 sont déterminés. Les rendements quantiques des complexes TbL^1 , TbL^3 et EuL^3 dans l'eau sont calculés et la variations de leurs valeurs en fonction du pH observée.

Ceci afin d'analyser l'influence de la nature des ligands sur leur coordination avec les métaux, et sur l'efficacité du transfert d'énergie intramoléculaire au sein des complexes.

IV.2.2.1 Détermination des niveaux d'énergie des ligands dans les complexes

Emission du ligand L^3

La luminescence du ligand L^1 avait été étudiée par G. Zucchi, et il fut spécifié que lorsque ce ligand est excité à 40320 cm^{-1} (248 nm), énergie correspondant à son maximum d'absorption, seul le niveau triplet est détecté à 77 K, se situant vers 23000 cm^{-1} (435 nm), la transition 0-phonon étant localisée vers 24550 cm^{-1} (407 nm).^[7]

L'énergie maximale d'excitation du ligand L^3 est de 35088 cm^{-1} (247 nm). L'état singulet n'est pas détecté, ni à 298 K, ni à 77 K, soit à cause d'une très forte désexcitation non radiative, soit grâce à un bon transfert vers l'état triplet. Ce dernier est détecté à 77 K, vers 23809 cm^{-1} (420 nm), la transition 0-phonon se situant vers 25640 cm^{-1} (390 nm). Le spectre d'émission du ligand L^3 est représenté en figure 4.28.

L'énergie du niveau triplet du ligand L^3 est très proche de celle du niveau triplet du ligand L^1 , montrant le peu d'influence qu'exerce le bras fonctionnalisé sur la position des niveaux énergétiques du ligand. Par contre, G. Zucchi a montré que la nature du substituant, lorsque la molécule possède quatre bras identiques, est très influant sur la position de ses niveaux d'énergie, d'autant plus que si le substituant est fixé sur le groupement chromophore du bras. Dans le cas du ligand L^3 , il semblerait que l'asymétrie de la molécule influence peu la position des niveaux. Effectivement, la délocalisation électronique sur chaque groupement chromophore est presque inchangée car son environnement direct est peu modifié. Le nombre de groupements chromophores est quant à lui diminué, passant de quatre à trois. Nous verrons quelle conséquence cela apporte sur la luminescence des complexes.

Emission des complexes

Les spectres d'émission des complexes de lanthanides et du ligand L^3 ont été mesurés en solution, dans le glycérol aqueux à 5 % (afin d'éviter l'expansion de l'eau lors des mesures à 77 K, qui détériore la cuve de mesure) et dans l'acétonitrile. Le premier solvant a comme intérêt l'application dans le domaine biomédical, et le second va nous permettre de comparer nos résultats avec ceux des complexes du ligand L^1 , puisque les mesures de luminescence de ses complexes ont été réalisées dans l'acétonitrile, de par leur bonne solubilité.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

Les complexes des ligands L^3 et L^1 ont été excités à 40485 cm^{-1} (247 nm), correspondant à leur maximum d'absorption (cf. IV.1 *Thermodynamique en solution*).

Dans le glycérol à 5 %, l'état triplet du ligand L^3 n'est pas déplacé après complexation (figure 4.28).

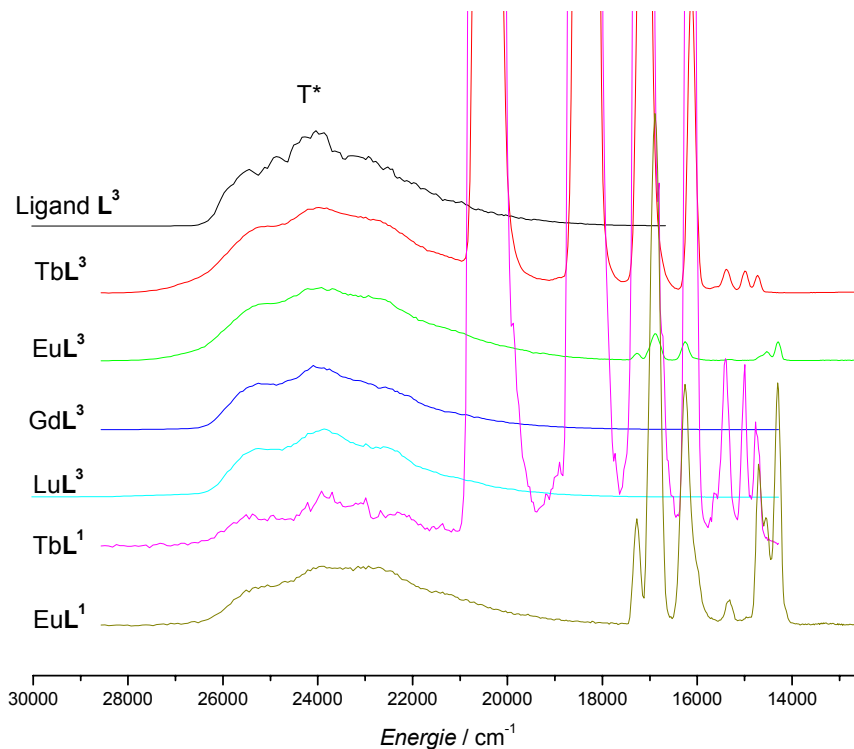


Figure 4.28 : état triplet dans les complexes (glycérol à 5 % dans l'eau, 77 K).

En revanche, dans l'acétonitrile, celui-ci est déplacé d'environ 600 cm^{-1} entre les complexes de terbium et d'europium, et d'environ 2000 cm^{-1} entre les complexes de terbium et de lutécium (figure 4.29). Ces remarques nous permettent de penser que l'acétonitrile est un solvant qui affecte particulièrement l'environnement du métal dans les complexes, alors que ce dernier semble être protégé de manière plus efficace par le ligand dans le glycérol à 5 %.

IV.2.2 Caractérisation des complexes en solution

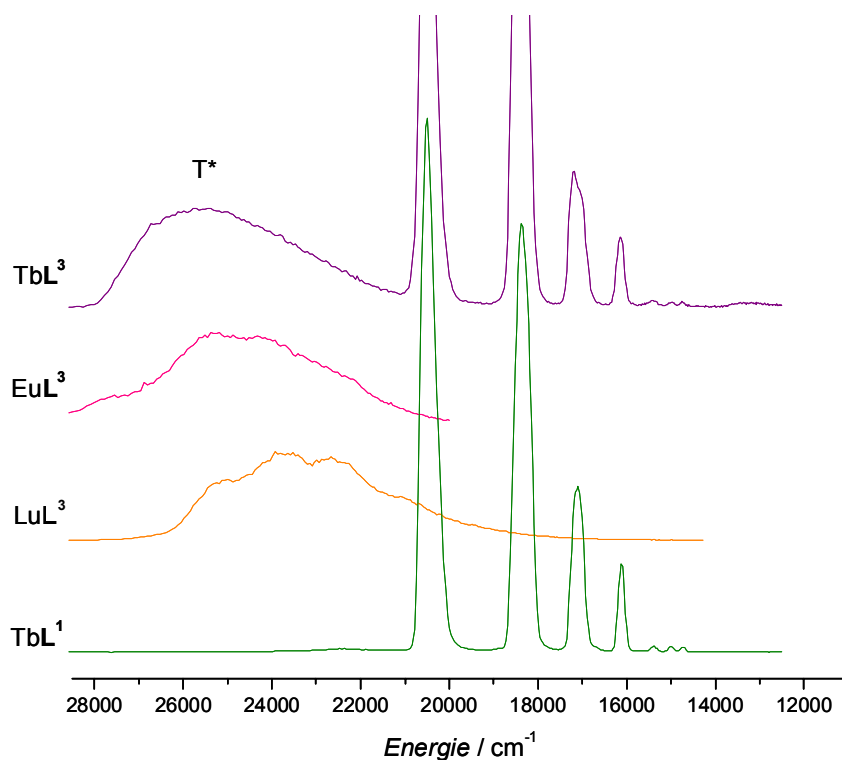


Figure 4.29 : état triplet dans les complexes (CH₃CN, 77 K).

L'état singulet du ligand **L**³ a été observé dans le complexe de lutécium, à 77 K (figures 4.30 et 4.31). Comme il n'est pas intense, sa localisation est difficile, vers 27000 cm⁻¹ (370 nm) dans le glycérol à 5 % et dans l'acétonitrile. Il n'est pas détecté dans les complexes d'euporium et de terbium. Celui du ligand **L**¹ n'est pas du tout détecté, ce qui indique un bon transfert au sein du ligand.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

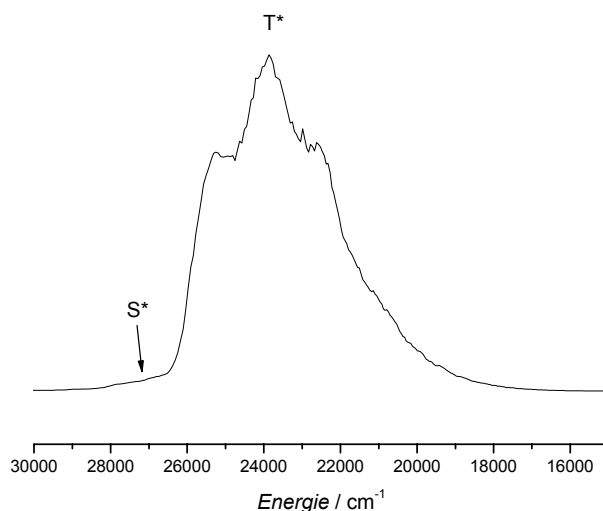


Figure 4.30 : états triplet et singulet dans le complexe LuL^3 (glycérol à 5 % dans l'eau, 77 K, mode fluorescence).

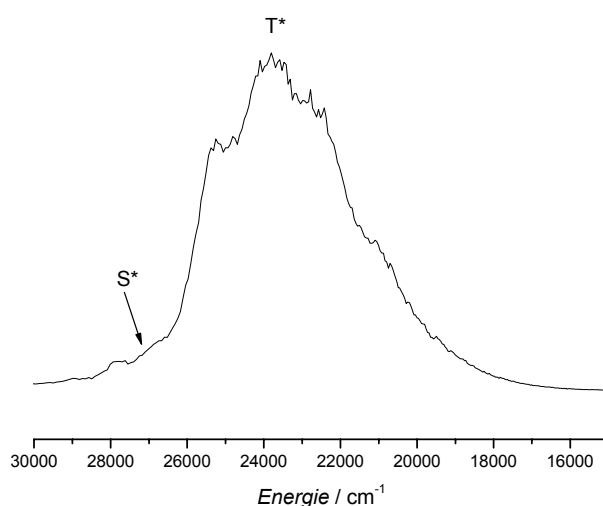


Figure 4.31 : états triplet et singulet dans le complexe LuL^3 (CH_3CN , 77 K, mode fluorescence).

Si l'on reprend l'étude photophysique effectuée à l'état solide et celle en solution, il est possible de calculer les différences d'énergie entre les niveaux excités qui nous intéressent (figure 4.31). D'après ce schéma, la faible différence d'énergie entre les états singulet et triplet est propice à un très bon transfert, ce qui explique le fait qu'on ne détecte l'état singulet que faiblement. La différence d'énergie entre le niveau 0-phonon de l'état triplet et le niveau 5D_4 de l'ion Tb(III) est

IV.2.2 Caractérisation des complexes en solution

plus faible que celle entre le niveau 0-phonon de l'état triplet et le niveau 5D_0 de l'ion Eu(III), ce qui indique que, théoriquement, le transfert d'énergie vers l'ion Tb(III) devrait être meilleur que vers l'ion Eu(III). Cette hypothèse est vérifiée par les valeurs des rendements quantiques obtenus précédemment et dans la partie suivante (cf. II Compléments de l'étude photophysique en solution des complexes contenant les ligands L^1 et L^2 et IV.2.2.3 Rendements quantiques absolus des complexes TbL^1 , TbL^3 et EuL^3).

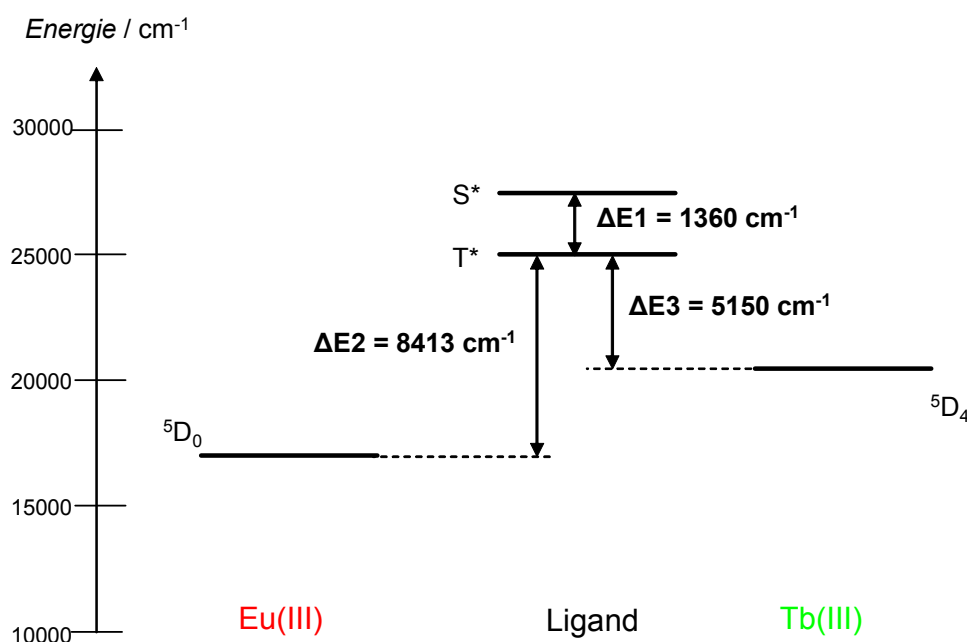


Figure 4.31 : différences d'énergie entre les états excités des molécules à 77 K, $E(S^*) = 27000 \text{ cm}^{-1}$, $E(T^*) = 25641 \text{ cm}^{-1}$, $E(^5D_0) = 17228 \text{ cm}^{-1}$, $E(^5D_4) = 20492 \text{ cm}^{-1}$.

Dans le glycérol à 5 %, la forme et les intensités relatives des raies d'émission des complexes de terbium avec les ligands L^3 et L^1 sont très semblables (figure 4.32). Par contre, les raies d'émission des complexes d'euprium, beaucoup plus sensibles à l'environnement du métal, sont différentes (figure 4.33). Notamment, la transition $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$, hypersensible, comporte un épaulement supplémentaire pour le complexe EuL^1 , et la transition $^5D_0 \rightarrow ^7F_4$ n'a pas le même maximum dans sa partie comprise entre 14500 et 14700 cm^{-1} . Tout comme à l'état solide, ces deux complexes ont des symétries de coordination légèrement différentes (cf. IV.2.1 Etude à l'état solide, haute résolution).

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

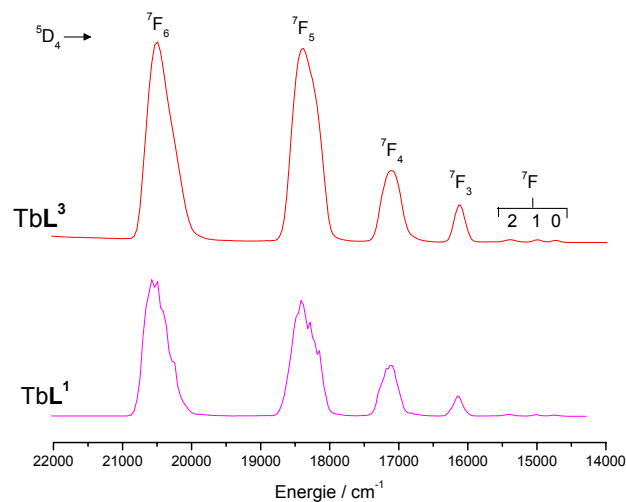


Figure 4.32 : spectres de phosphorescence des complexes de terbium (glycérol à 5 %, 77K).

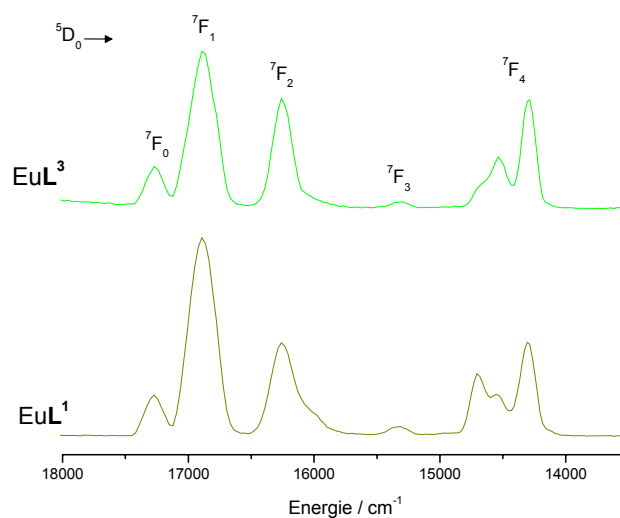


Figure 4.33 : spectres de phosphorescence des complexes d'euprium (glycérol à 5 %, 77K).

Dans l'acétonitrile, des différences sont notables entre les deux complexes de terbium (figure 4.34). En effet, la transition $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$ est la plus intense pour le complexe TbL^3 alors que la transition $^5D_4 \rightarrow ^7F_6$ est la plus intense pour le complexe TbL^1 . En outre, la transition $^5D_4 \rightarrow ^7F_4$, hypersensible, présente deux composantes pour le complexe TbL^3 alors qu'elle est sous la forme d'un pic large pour le complexe TbL^1 .

IV.2.2 Caractérisation des complexes en solution

Si l'on compare le complexe TbL^3 dans les deux solvants, les deux transitions hypersensibles $^5\text{D}_4 \rightarrow ^7\text{F}_6$ et $^5\text{D}_4 \rightarrow ^7\text{F}_4$ varient en forme et en intensité, alors qu'elles ne changent pas pour le complexe TbL^1 , montrant que ce dernier est moins sensible aux interactions avec le solvant.

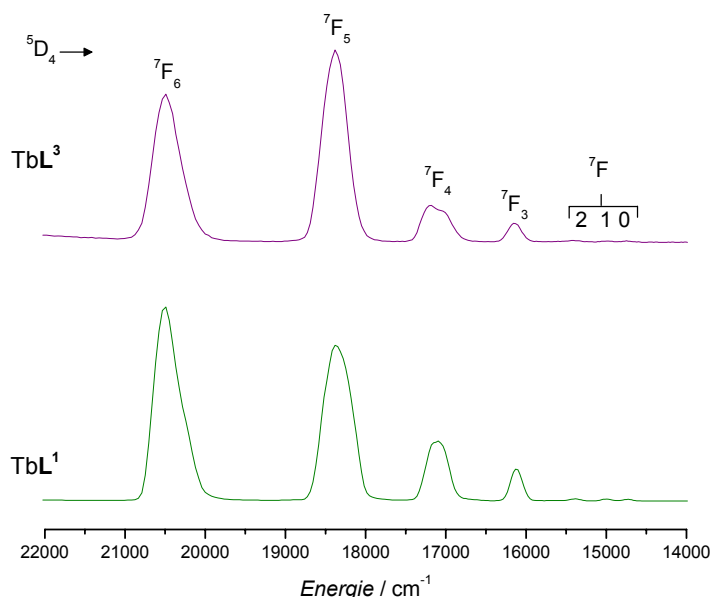


Figure 4.34 : spectres de phosphorescence des complexes de terbium (CH_3CN , 77K).

IV.2.2.2 Temps de vie et nombre d'hydratation

Les résultats des mesures des temps de vie des ions Tb(III) et Eu(III) dans les complexes avec les ligands L^3 et L^1 , dans le glycérol à 5 % sont présentés dans le tableau 4.7, et ceux dans l'acétonitrile dans le tableau 4.8. L'excitation a été effectuée au sein du ligand, à 40485 cm^{-1} (247 nm), et les temps de vie ont été mesurés sur les transitions $^5\text{D}_4 \rightarrow ^7\text{F}_5$ du terbium et $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_2$ de l'euporium. Les constantes de désexcitation de ces niveaux ont été calculées, elles sont égales à l'inverse du temps de vie de l'ion considéré. Les mesures à température ambiante sont écrites en rouge et celles à 77 K en bleu.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

Les valeurs des temps de vie de l'ion Tb(III) dans le glycérol à 5 % sont un peu plus faibles pour le complexe avec le ligand L^3 qu'avec L^1 , de 0.35 ms à température ambiante et de 0.08 ms à 77 K, indiquant que la fonctionnalisation d'un groupement chromophore sur le ligand a une influence sur les propriétés de luminescence du composé. D'autre part, ces valeurs ne varient que très peu selon la température, montrant que l'ion Tb(III) subit peu de désexcitation non radiative, éliminant toute idée de transfert en retour du niveau 5D_4 du terbium vers le niveau triplet du ligand. Ces remarques sont identiques pour les complexes d'euporium, puisque le temps de vie du complexe avec le ligand L^3 est plus court de 0.27 ms que celui du complexe avec le ligand L^1 à température ambiante.

Tableau 4.7 : valeurs des temps de vie et des constantes de désexcitation des ions Tb(III) et Eu(III) dans le glycérol à 5 % dans l'eau.

Complexe	Temps de vie du Ln^{3+} (ms)	Constante de désexcitation du Ln^{3+} (ms^{-1})
Tb L^3	1.66 +/- 0.03 (295 K) 1.89 +/- 0.04 (77 K)	0.60 +/- 0.01 (295 K) 0.53 +/- 0.01 (77 K)
Tb L^1	2.01 +/- 0.09 (295 K) 1.97 +/- 0.03 (77 K)	0.50 +/- 0.03 (295 K) 0.508 +/- 0.008 (77 K)
Eu L^3	0.59 +/- 0.04 (295 K) 0.67 +/- 0.04 (77 K)	1.7 +/- 0.1 (295 K) 1.49 +/- 0.09 (77 K)
Eu L^1	0.86 +/- 0.06 (295 K)	1.16 +/- 0.08 (295 K)

Dans l'acétonitrile, les valeurs des temps de vie des complexes avec le ligand L^3 sont significativement plus faibles que ceux des complexes avec le ligand L^1 , de 0.40 ms à température ambiante et de 0.21 ms à 77 K pour les ions Tb(III) et de 0.52 ms à température ambiante pour les ions Eu(III). Cette diminution plus prononcée dans ce solvant peut s'expliquer par une meilleure coordination de la fonction acide carboxylique présente dans le ligand L^3 . Par contre, les temps de vie de l'ion Tb(III) sont plus courts dans ce solvant que dans le glycérol à 5 %, passant par exemple de 1.66 à 0.83 ms pour le complexe Tb L^3 à température ambiante. Ce comportement s'explique par le fait que l'énergie de l'état triplet dans le complexe de terbium est augmentée d'environ 2000 cm^{-1} dans l'acétonitrile (figures 4.28 et 4.29).

IV.2.2 Caractérisation des complexes en solution

Tableau 4.8 : valeurs des temps de vie et des constantes de désexcitation des ions Tb(III) et Eu(III) dans l'acétonitrile.

Complexe	Temps de vie du Ln ³⁺ (ms)	Constante de désexcitation du Ln ³⁺ (ms ⁻¹)
TbL ³	0.83 +/- 0.02 (TA) 1.66 +/- 0.03 (77 K)	1.20 +/- 0.03 (TA) 0.60 +/- 0.01 (77 K)
TbL ¹	1.23 +/- 0.01 (TA) 1.87 +/- 0.03 (77 K)	0.813 +/- 0.007 (TA) 0.535 +/- 0.009 (77 K)
EuL ³	0.62 +/- 0.04 (TA) 0.68 +/- 0.01 (77 K)	1.6 +/- 0.1 (TA) 1.5 +/- 0.2 (77 K)
EuL ¹ [7]	1.14 +/- 0.04 (TA)	0.88 +/- 0.03 (TA)

Les valeurs des temps de vie de l'ion Tb(III) dans le complexe TbL³ ont été déterminés dans l'eau et dans D₂O afin de calculer le nombre d'hydratation du complexe en solution. Les résultats sont présentés dans le tableau 4.9. Les grandeurs $k(\text{H}_2\text{O})$ et $k(\text{D}_2\text{O})$ représentent respectivement les constantes de désexcitation radiative du niveau ⁵D₄ du terbium dans l'eau et dans D₂O ; q^1 et q^2 sont les nombres d'hydratation calculés selon les équations (1)^[12] et (2)^[13]:

$$q^1 = 5(\Delta k - 0.06) \quad (1)$$

$$q^2 = 4.2\Delta k \quad (2)$$

où $\Delta k = k(\text{H}_2\text{O}) - k(\text{D}_2\text{O})$

A pH = 7.5, $q = 0.63$ en moyenne, il existe donc deux espèces en solution, une comportant une molécule d'eau dans sa sphère de coordination et l'autre n'en comportant pas, l'équilibre entre les deux espèces nous donnant cette moyenne. Par contre, à pH acide, la valeur de q est proche de 2. La différence d'hydratation du complexe entre les pH neutre et acide nous laisse confirmer l'hypothèse émise précédemment (cf. IV.2.1 *Luminescence à haute résolution des complexes EuL³ et TbL³ à l'état solide*), qui consistait à penser qu'à pH 7.5, la fonction acide du bras fonctionnalisé est déprotonée (cf IV.1.3 *diagramme de distribution du complexe TbL³ dans l'eau*), elle peut ainsi se replier sur l'ion Tb(III), complétant ainsi la sphère de coordination à 9, et elle rentre en compétition avec une molécule de solvant. A pH 3, cette même fonction acide est protonée et ne se coordonne pas à l'ion Tb(III), une molécule d'eau la remplace dans la sphère de

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

coordination. Le nombre d'hydratation égal à 2 environ indique également la décomplexation partielle d'un bras.

Tableau 4.9 : nombre d'hydratation du complexe TbL^3 à différentes valeurs de pH.

pH	$k(H_2O) / ms^{-1}$	$k(D_2O) / ms^{-1}$	q^1	q^2
3	0.834	0.361	2.06	1.99
7.5	0.507	0.336	0.55	0.72

IV.2.2.3 Rendements quantiques absolus des complexes TbL^1 , TbL^3 et EuL^3

Les rendements quantiques des complexes TbL^1 , TbL^3 et EuL^3 ont été déterminés dans l'eau. Le sulfate de quinine ($\Phi_{abs} = 54.6\%$ dans H_2SO_4 0.5 M^[14]) a été utilisé comme référence pour le rendement quantique des complexes de terbium car il absorbe et émet dans les mêmes régions que les complexes (cf. *II Compléments de l'étude photophysique en solution des complexes contenant les ligands L^1 et L^2*). La rhodamine 101 ($\Phi_{abs} = 100\%$ dans l'éthanol^[14]) et le violet de crésyle ($\Phi_{abs} = 54\%$ dans le méthanol^[14]) ont été utilisés comme références pour le rendement quantique du complexe d'euporium pour les mêmes raisons. Enfin, le complexe $Eu(dpa)_3$, comportant trois ligands dipicolinate ($\Phi_{abs} = 13.5\%$ dans l'eau,^[15] $Abs(279\text{ nm}) = 0.210$), a été utilisé comme référence pour le rendement quantique des complexes de terbium et d'euporium.

Les valeurs calculées pour chaque complexe avec les différentes références sont assez éloignées (tableau 4.10), nous obtenons les rendements quantiques absolus moyens de 4.2 % pour le complexe TbL^1 , 2.6 % pour le complexe TbL^3 , et 1.4 % pour le complexe EuL^3 . Le rendement quantique du complexe TbL^1 a la même valeur que celui déterminé par A. Dadabhoy, et n'est pas du même ordre de grandeur que celui déterminé auparavant (cf. *II Compléments de l'étude photophysique en solution des complexes contenant les ligands L^1 et L^2*). Le pH différent des solutions pourrait expliquer cette variation. Celui de la solution de TbL^1 présentée dans ce chapitre est de 6.0.

Le rendement quantique du complexe TbL^3 est plus faible que celui du complexe TbL^1 . Le fait que le ligand L^3 ait un bras fonctionnalisé par rapport au ligand symétrique L^1 indique donc, du

IV.2.2 Caractérisation des complexes en solution

point de vue de la luminescence, une perte d'efficacité dans le transfert d'énergie intramoléculaire, causée par les désactivations non radiatives. Comme nous l'avons évoqué précédemment, la présence de la fonction acide carboxylique au sein de la sphère de coordination du métal peut être la cause d'un tel comportement. Le complexe EuL^3 présente lui aussi un rendement quantique plus faible que son homologue avec le ligand L^1 , dont la valeur est de 2.1 % pour une énergie d'excitation de $40\,320\text{ cm}^{-1}$ (248 nm).^[8] Néanmoins, les valeurs des rendements quantiques des complexes avec le ligand L^3 relatent que ces composés sont stables en milieu aqueux, et qu'ils sont propices à des transferts énergétiques adaptés pour des applications biomédicales.

Tableau 4.10 : rendements quantiques absolus (%) des complexes TbL^1 , TbL^3 et EuL^3 dans l'eau non dégazée, par rapport à diverses références.

Complexes Référence	TbL^1	TbL^3	EuL^3
Rhodamine 101 $E_{\text{exc}} = 39215\text{ cm}^{-1}$ (255 nm)	-	-	2.0
Violet de crésyle $E_{\text{exc}} = 38760\text{ cm}^{-1}$ (258 nm)	-	3.3	1.7
Sulfate de quinine $E_{\text{exc}} = 40485\text{ cm}^{-1}$ (247 nm)	5.2	3.4	
Eu(dpa)_3 $E_{\text{exc}} = 38910\text{ cm}^{-1}$ (257 nm)	3.2	1.0	0.5
Moyenne	4.2 +/- 1.4	2.6 +/- 1.1	1.4 +/- 0.7

Les rendements quantiques des complexes d'euprium sont plus faibles que ceux des complexes de terbium. Ce comportement est attribué à une différence énergétique moins importante entre l'état triplet du ligand et le niveau accepteur de l'ion Tb(III) , favorisant le transfert énergétique intramoléculaire (cf. IV.2.2.1 Détermination des niveaux d'énergie des ligands dans les complexes).

IV.2.2.4 Rendements quantiques des complexes TbL^1 et TbL^3 en fonction du pH

Comme nous avons étudié les espèces en solution pour les complexes TbL^1 et TbL^3 en solution aqueuse et selon le pH (cf. IV.1.1 *Diagramme de distribution du complexe TbL^1 dans l'eau* et IV.1.3 *Diagramme de distribution du complexe TbL^3 dans l'eau*), nous nous sommes intéressés à l'impact que peuvent avoir ces distributions des espèces sur les rendements quantiques. Nous avons ainsi déterminé les valeurs des rendements quantiques des complexes TbL^1 et TbL^3 en solution aqueuse et en fonction du pH.

Pour cela, nous avons mesuré l'absorbance et l'émission des solutions utilisées pour réaliser les diagrammes de distribution des complexes, qui ont été diluées d'un facteur 5. La dilution des solutions était nécessaire afin que leur absorbance soit inférieure à 0.1, condition expérimentale pour laquelle les mesures des rendements quantiques soient les plus précises possible. Le sulfate de quinine est la référence utilisée pour déterminer les rendements quantiques absolus des composés, le sien étant de 54.6 % dans H_2SO_4 0.5 M.^[14]

Rendements quantiques de TbL^1 en fonction du pH

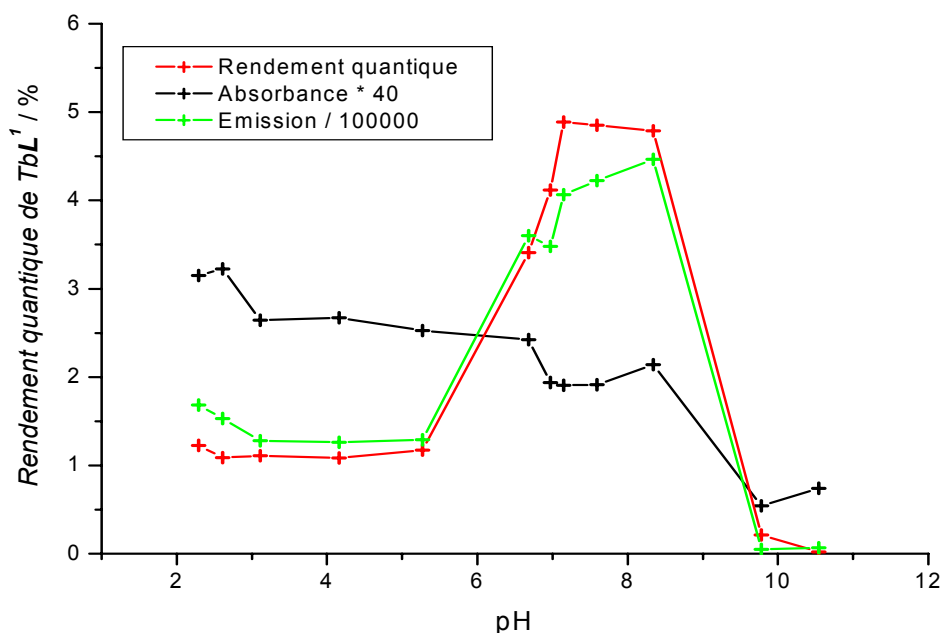


Figure 4.35 : rendement quantique, absorbance et émission du complexe TbL^1 en fonction du pH.

IV.2.2 Caractérisation des complexes en solution

La figure 4.35 représente la variation de l'absorbance, de l'émission et du rendement quantique du complexe TbL^1 en fonction du pH. Etant donné que l'intensité de luminescence des composés est très élevée devant leur absorption, la valeur des rendements quantiques va dépendre essentiellement de cette première grandeur, ce qui se voit aisément sur le graphique.

La valeur du rendement quantique du complexe TbL^1 est faible et constante entre les pH 2 et 5, égale à 1.2 %, augmente à une valeur de 5.0 % entre les pH 7 et 8.5, pour redescendre au-delà du pH 9 vers une valeur quasi-nulle. Si l'on compare ces résultats avec le diagramme de distribution du complexe (cf. figure 4 dans IV.1.1 *Diagramme de distribution du complexe TbL^1 dans l'eau*), on peut remarquer que l'évolution de la valeur du rendement quantique est relative à la présence de la forme monoprotinée du complexe. En effet, à pH acide, la compétition avec le proton empêche une bonne complexation du terbium, il n'y a donc que peu d'espèce(s) complexée(s) en solution ; le rendement quantique est alors très faible. Lorsque l'on se trouve en présence du complexe TbL^1 avec le ligand sous sa forme protonée, le rendement quantique est nettement plus élevé. Finalement, à pH basique, le complexe passe sous sa forme neutre puis déprotonée, on est en présence de composés peu, voire pas du tout luminescents, en raison de la formation d'espèces hydroxylées.

Rendement quantique de TbL^3 en fonction du pH

La figure 4.36 représente la variation de l'absorbance, de l'émission et du rendement quantique du complexe TbL^3 en fonction du pH.

La valeur du rendement quantique est stable à pH acide, égale à 2 % et augmente légèrement à 2.5 % entre les pH 5 et 6. Puis aux pH neutres, cette valeur chute brusquement à 1.25 % pour remonter à 2.5 % vers le pH 7.5 et rechuter aux pH plus basiques à une valeur quasi-nulle vers pH 11. Si l'on compare ces résultats avec le diagramme de distribution du complexe (cf. figure 12 dans IV.1.3 *Diagramme de distribution du complexe TbL^3 dans l'eau*), on peut remarquer que l'évolution de la valeur du rendement quantique se corrèle avec la protonation du ligand dans le complexe.

Nous ne pouvons pas expliquer le fait que le rendement quantique soit assez grand aux pH acides, étant donné que le terbium n'y est pas complexé. Entre les pH 4 et 6, on se trouve en présence de

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

l'espèce monoprotannée, et le rendement quantique augmente légèrement. La chute de la valeur du rendement quantique à pH 7 correspond à la présence de l'espèce neutre. Une fois encore, nous n'avons pas trouvé d'explication à l'augmentation subite du rendement quantique à pH 8. La chute aux pH basiques est due à la formation de l'espèce hydroxylée, non lumineuse.

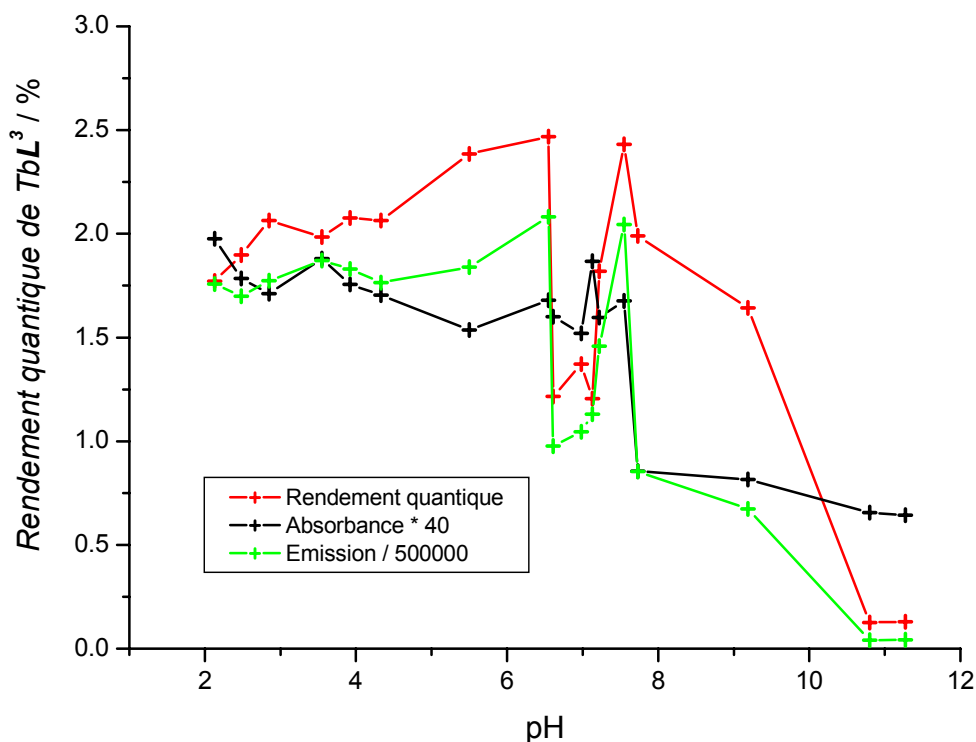


Figure 4.36 : rendement quantique, absorbance et émission du complexe TbL^3 en fonction du pH.

L'étude de la variation de la valeur du rendement quantique des complexes TbL^1 et TbL^3 en fonction du pH est très intéressante, même si des questions restent en suspens. La région du pH neutre nous intéresse le plus, dans l'objectif des applications biomédicales, et c'est précisément dans ce domaine que l'on observe un comportement très différent entre les deux complexes. En effet, pour le complexe TbL^1 , la valeur du rendement quantique y est la plus élevée, ce qui traduit la sensibilisation plus grande de l'ion $Tb(III)$ par le ligand, en dépit de la présence d'une molécule d'eau dans la sphère de coordination du métal.

IV.2.2 Caractérisation des complexes en solution

Pour le complexe TbL^3 , elle y est la moins élevée. Cette différence peut venir de la structure différente des ligands, déjà évoquée dans la partie précédente consacrée au nombre d'hydratation du complexe. Le bras fonctionnalisé du ligand L^3 comporte une fonction acide. A ce pH, elle est déprotonée et peut alors s'insérer dans la sphère de coordination du métal, rentrant en compétition avec la molécule d'eau présente dans le complexe TbL^1 et perturbant ainsi l'environnement du métal. Ce qui se répercute sur le transfert d'énergie intramoléculaire.

IV.2.3 Transfert d'énergie vers l'accepteur Cy5

Dans l'optique d'une application biomédicale, nous nous sommes intéressés au transfert de l'énergie lumineuse depuis les complexes EuL^2 , EuL^3 , TbL^3 vers un accepteur, la molécule organique Cy5 (figure 4.37), qui est couramment utilisée dans ce domaine en tant que sonde luminescente.^[16-19] Son coefficient d'absorption molaire à 15408 cm^{-1} (649 nm) est très grand, égal à $250000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, et son maximum d'émission se situe à 14925 cm^{-1} (670 nm).

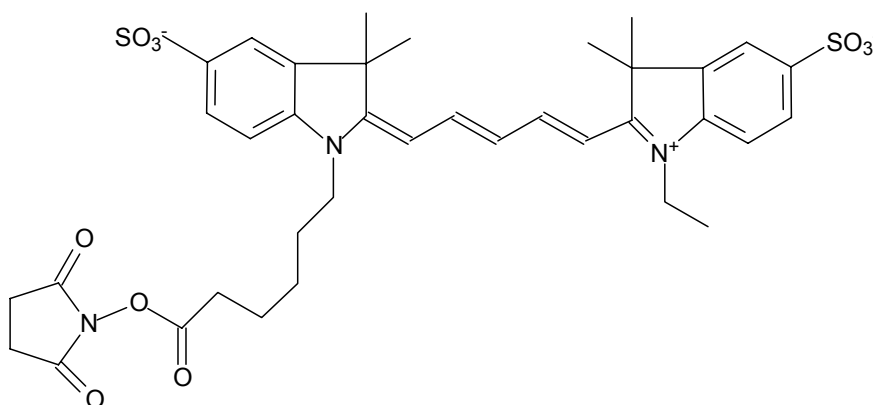


Figure 4.37 : schéma de la molécule Cy5.

Dans un premier temps, l'étude du transfert d'énergie a été effectuée sur les solutions aqueuses des complexes en fonction de l'ajout de Cy5. Puis, une fois que le rapport complexe / Cy5 fut déterminé afin d'obtenir un transfert optimum, nous nous sommes intéressés à l'influence du pH sur ces transferts d'énergie.

IV.2.3.1 Etude des systèmes $EuL^2 - Cy5$, $EuL^3 - Cy5$ et $TbL^3 - Cy5$

Une solution de complexe à 2.10^{-6} M environ est titrée par ajouts successifs de Cy5. Chaque ajout de Cy5 s'accompagne de la mesure de l'absorbance et de l'émission du complexe et de Cy5, et du temps de vie de $Ln(III)$.

IV.2.3 Transfert d'énergie vers l'accepteur Cy5

La variation de l'absorbance des composés permet de vérifier leur concentration (figures 4.38-4.40).

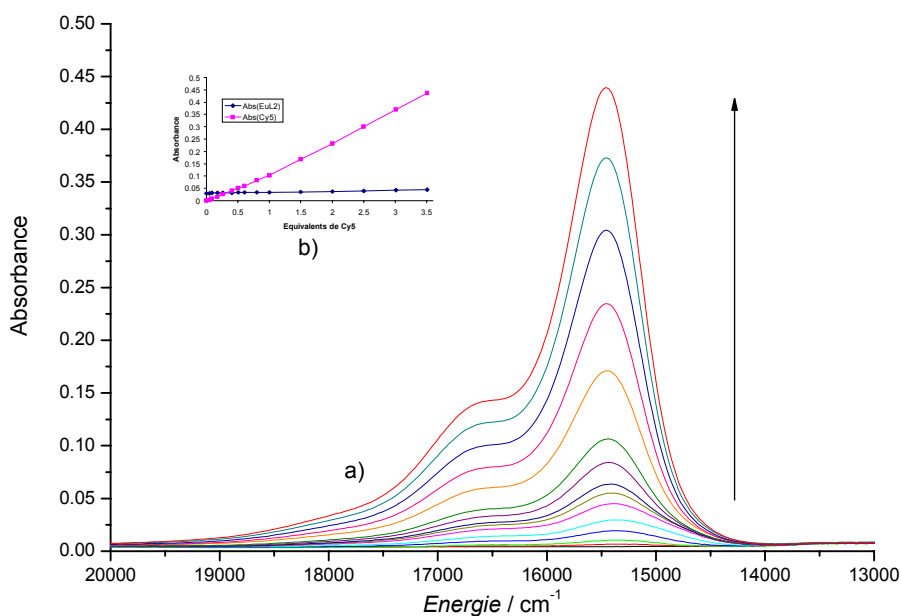


Figure 4.38 : a) absorption de Cy5 en fonction de son ajout (0 à 3.5 équivalents) ;
b) graphique de la variation d'absorption du complexe EuL² à 34722 cm⁻¹ (288nm) et de Cy5 à 15408 cm⁻¹ (649 nm).

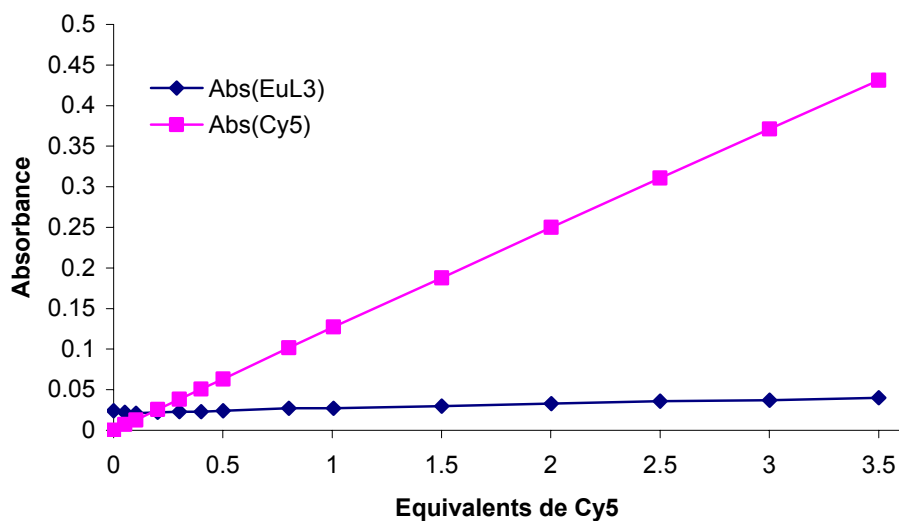


Figure 4.39 : variation d'absorption du complexe EuL³ à 40322cm⁻¹ (248 nm) et de Cy5 à 15408 cm⁻¹ (649 nm) en fonction de l'ajout de Cy5.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

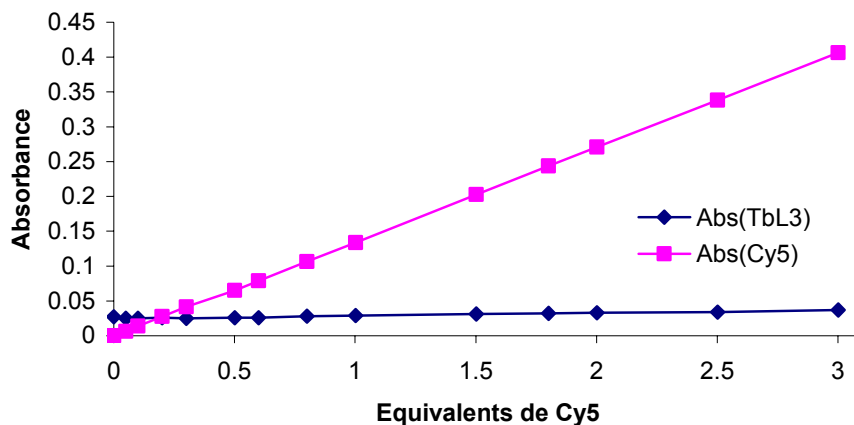


Figure 4.40 : variation d'absorption du complexe TbL^3 à 40322cm^{-1} (248 nm) et de Cy5 à 15408cm^{-1} (649 nm) en fonction de l'ajout de Cy5.

Les spectres d'émission des trois systèmes sont représentés figures 4.41 à 4.43. A partir des figures 4.38 à 4.40, nous avons intégré l'aire d'émission des complexes et de Cy5, dont l'évolution est reportée sur les figures 4.44 à 4.46. Les trois bandes d'émission des complexes d'euprium correspondant aux transitions $^5D_0 \rightarrow ^7F_{2,3,4}$ chevauchent celle de Cy5 (figures 4.41 et 4.42). Pour intégrer l'aire d'émission du complexe, nous avons considéré que les transitions $^5D_0 \rightarrow ^7F_{0,1}$ représentent 34.6 % de l'aire totale d'émission du complexe pour EuL^2 et 44.8 % pour le complexe EuL^3 , en intégrant les aires du complexe seul en solution. Nous avons considéré pour les autres mesures, en présence de Cy5, que ce rapport d'intégration est toujours le même, afin de calculer l'aire totale d'émission du complexe. Pour calculer celle de Cy5, nous avons soustrait l'aire du complexe à l'aire d'intégration globale de la région examinée.

IV.2.3 Transfert d'énergie vers l'accepteur Cy5

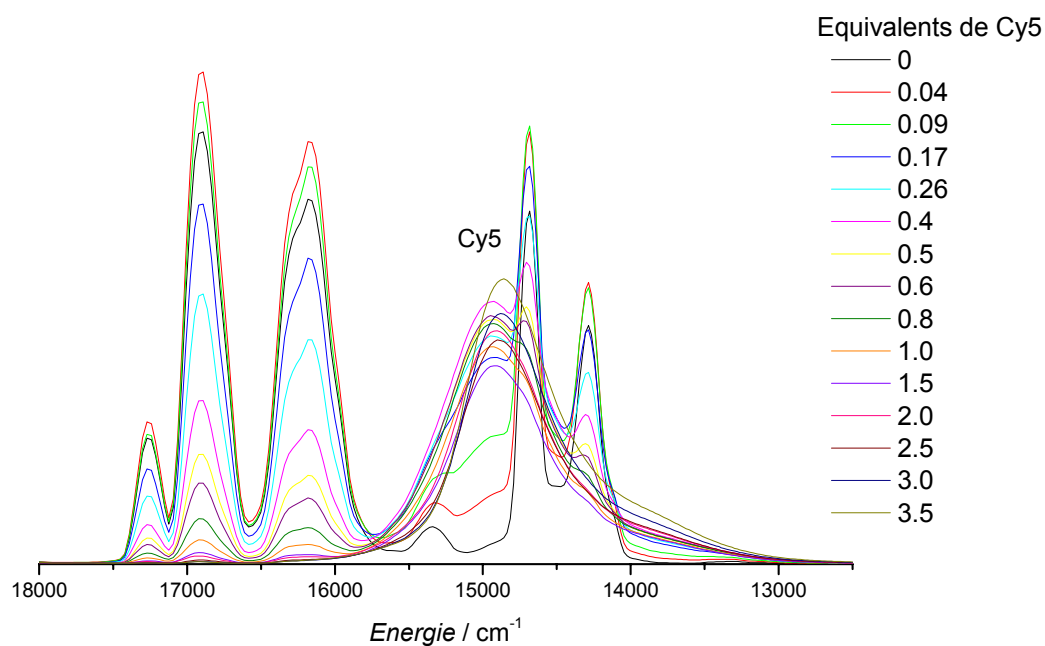


Figure 4.41 : émission du complexe EuL^2 et de Cy5 en fonction de la quantité de Cy5, $E_{\text{exc}} = 35088 \text{ cm}^{-1}$ (285 nm).

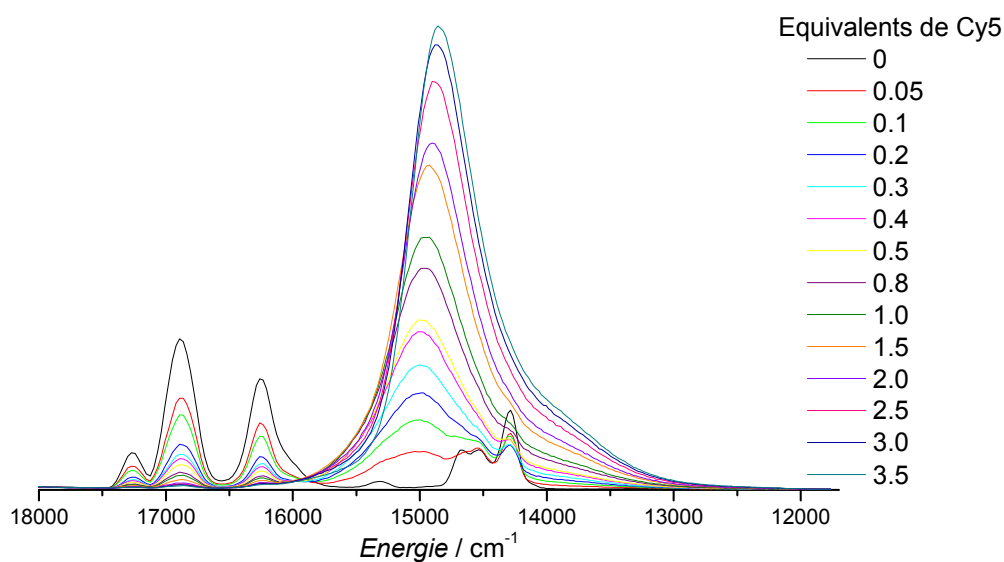


Figure 4.42 : émission du complexe EuL^3 et de Cy5 en fonction de la quantité de Cy5, $E_{\text{exc}} = 40322 \text{ cm}^{-1}$ (248 nm).

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

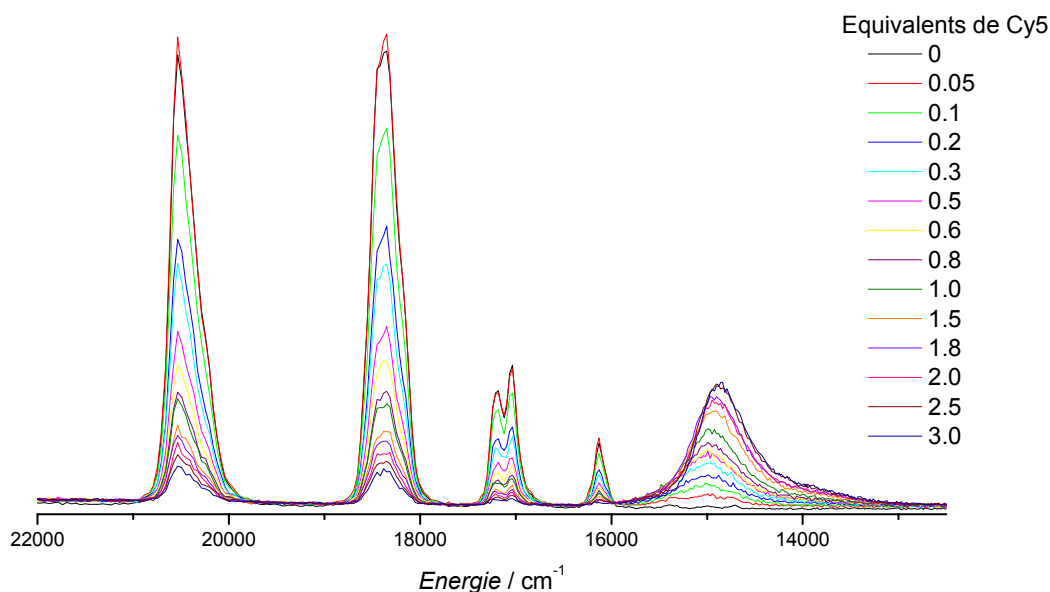


Figure 4.43 : émission du complexe TbL^3 et de Cy5 en fonction de la quantité de Cy5, $E_{exc} = 40322\text{cm}^{-1}$ (248 nm).

La diminution de l'intensité d'émission et du temps de vie des complexes, et l'augmentation de l'intensité d'émission de Cy5 sont simultanées, au fur et à mesure de l'ajout de Cy5, ce qui signifie qu'un transfert d'énergie a lieu entre le complexe et Cy5 (figures 4.44-4.46). En d'autres termes, la luminescence du complexe est « captée » par l'accepteur Cy5. Ce transfert s'opère pour les trois systèmes considérés.

De manière générale, l'augmentation du transfert est importante entre 0 et 1 équivalent de Cy5, puis s'atténue au-delà. La quantité de Cy5 ajoutée pour obtenir un transfert optimal est donc de 1 à 1.5 équivalents par rapport au complexe. Concernant le système $EuL^2 - Cy5$ (figure 4.44), le transfert ne s'effectue qu'après addition de 0.03 équivalents de Cy5, alors qu'il est immédiat pour les deux complexes avec le ligand L^3 (figures 4.45 et 4.46). On peut ainsi supposer que l'interaction entre les complexes du ligand L^3 et Cy5 est plus forte qu'avec le complexe EuL^2 , à cause de la présence de la fonction acide, qui réagirait avec Cy5.

D'autre part, concernant les transferts entre les deux complexes d'euprimum et Cy5 (figures 4.44 et 4.45), l'aire d'émission de Cy5 augmente fortement entre le début et la fin des titrages, alors qu'elle est nettement plus petite pour le complexe de terbium (figure 4.46). Ceci est dû au fait que

IV.2.3 Transfert d'énergie vers l'accepteur Cy5

l'absorption maximale de Cy5 est à 15408 cm^{-1} (649 nm), énergie qui correspond à l'émission de la transition $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_3$ de l'euprium, alors que la bande d'absorption de Cy5 ne recouvre que pauvrement celle de l'émission de la transition $^5\text{D}_4 \rightarrow ^7\text{F}_2$ du terbium.

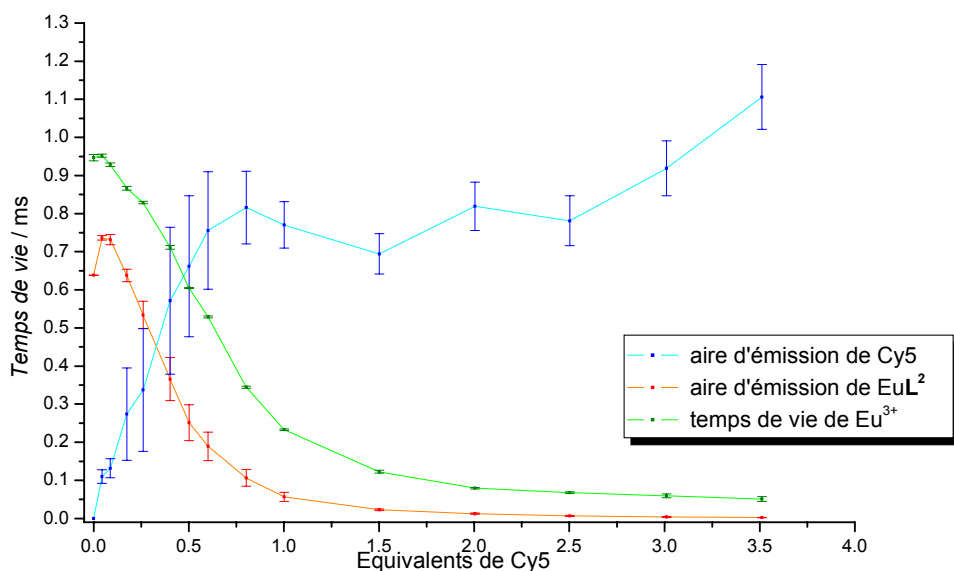


Figure 4.44 : variation des aires d'émission de Cy5 et du complexe EuL^2 , et du temps de vie de Eu^{3+} ($E_{\text{exc}} = 35088\text{ cm}^{-1}$ (285 nm), $E_{\text{an}} = 16892\text{ cm}^{-1}$ (592 nm)), en fonction de la quantité de Cy5.

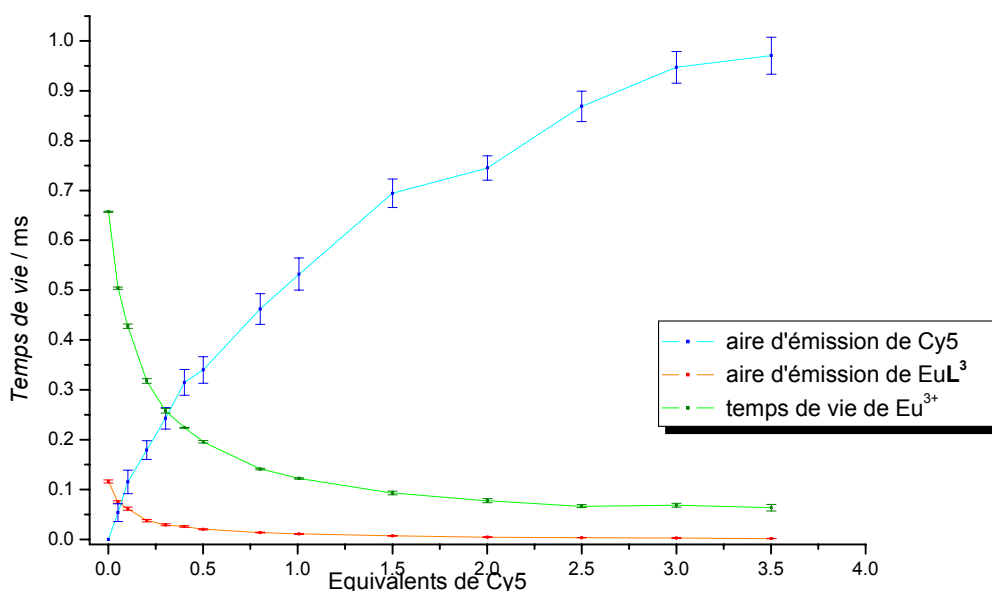


Figure 4.45 : variation des aires d'émission de Cy5 et du complexe EuL^3 , et du temps de vie de Eu^{3+} ($E_{\text{exc}} = 40322\text{ cm}^{-1}$ (248 nm), $E_{\text{an}} = 16892\text{ cm}^{-1}$ (592 nm)), en fonction de la quantité de Cy5.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

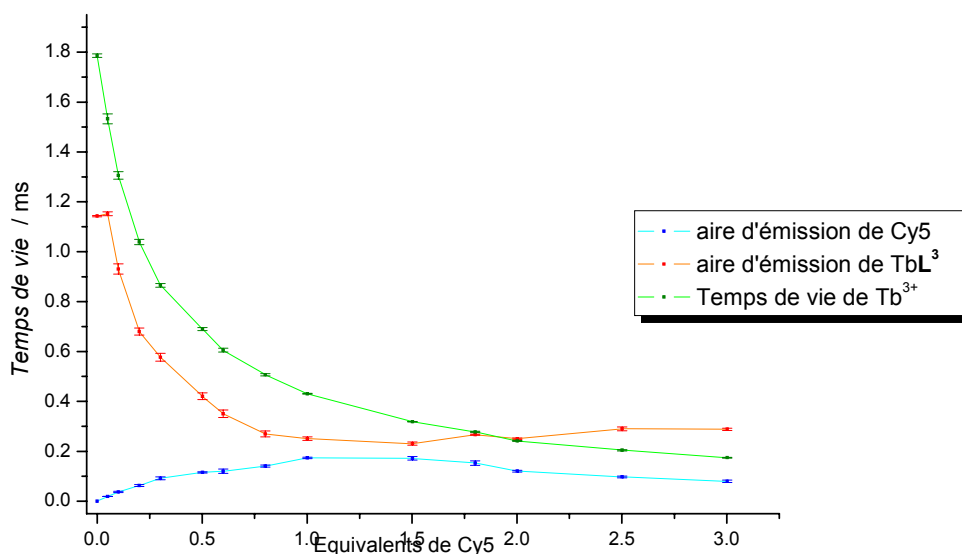


Figure 4.46 : variation des aires d'émission de Cy5 et du complexe TbL^3 , et du temps de vie de Tb^{3+} ($E_{exc} = 40322 cm^{-1}$ (248 nm), $E_{an} = 19417 cm^{-1}$ (515 nm)), en fonction de la quantité de Cy5.

Ces variations sont reportées graphiquement sur des courbes de Stern-Volmer (figures 4.47-4.49), selon les équations suivantes :

$$Aire(LnL)_0 / Aire(LnL) = 1 + K_{aire} \cdot [Cy5] \quad (1)$$

$$\tau(Ln^{3+})_0 / \tau(Ln^{3+}) = 1 + K_{\tau} \cdot [Cy5] \quad (2)$$

où $Aire(LnL)_0$ et $Aire(LnL)$ représentent respectivement les aires d'émission du complexe seul en solution et en présence de Cy5, dont la concentration est $[Cy5]$, K_{aire} représente la constante de Stern-Volmer selon le rapport des aires d'émission, $\tau(Ln^{3+})_0$ et $\tau(Ln^{3+})$ représentent respectivement les temps de vie de l'ion $Ln(III)$ en absence et en présence de Cy5, et K_{τ} la constante de Stern-Volmer selon le rapport des temps de vie.

Les courbes de Stern-Volmer des deux complexes d'euprium ont des allures similaires (figures 4.47 et 4.48). La variation du rapport $\tau(Eu^{3+})_0 / \tau(Eu^{3+})$ est faible, comparé à celle du rapport $Aire(EuL)_0 / Aire(EuL)$, mais ce dernier présente de plus grandes erreurs, surtout à des concentrations en Cy5 élevées. Les deux courbes de Stern-Volmer du complexe TbL^3 (figure

IV.2.3 Transfert d'énergie vers l'accepteur Cy5

4.49) évoluent ensemble, aux concentrations en Cy5 faibles, puis celle du rapport $\tau(Tb^{3+})_0 / \tau(Tb^{3+})$ augmente en gardant globalement la même pente, alors que celle du rapport $Aire(TbL)_0 / Aire(TbL)$ présente un pallier. Un tel comportement est différent de celui des complexes d'euprium, où la courbe du rapport $Aire(EuL)_0 / Aire(EuL)$ augmente plus fortement que celle du rapport $\tau(Eu^{3+})_0 / \tau(Eu^{3+})$.

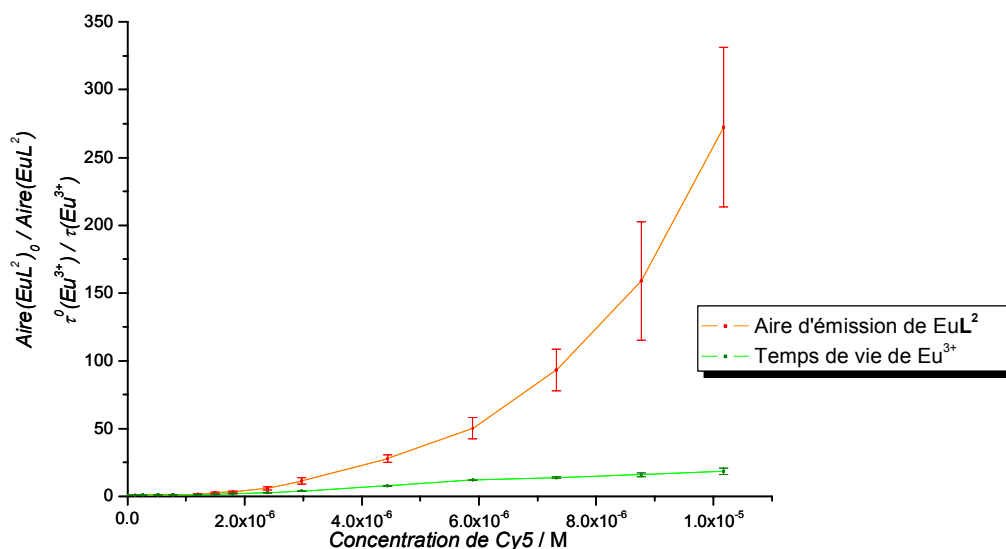


Figure 4.47 : courbes de Stern-Volmer du complexe EuL^2 en présence de Cy5.
 $[EuL^2] = 3.10^{-6}$ M

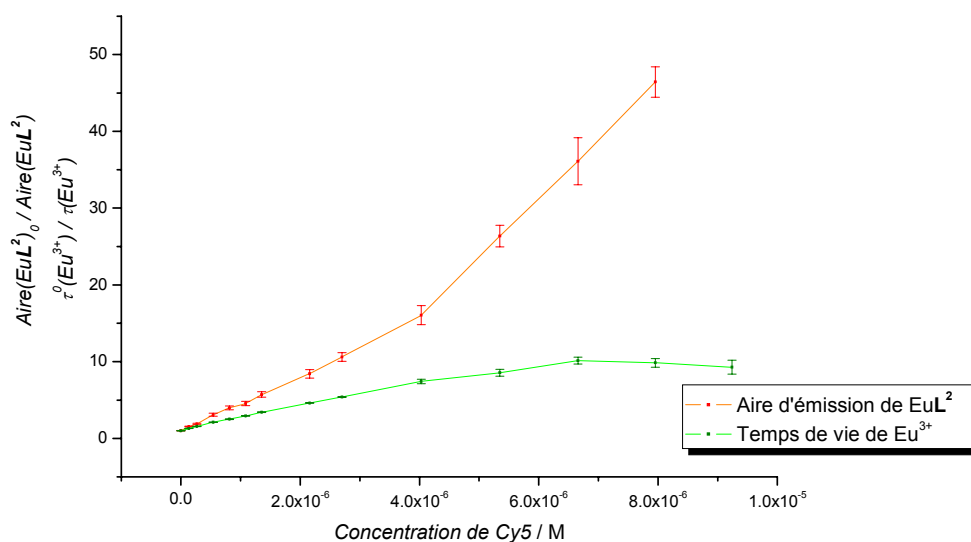


Figure 4.48 : courbes de Stern-Volmer du complexe EuL^3 en présence de Cy5.
 $[EuL^3] = 2.6.10^{-6}$ M.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

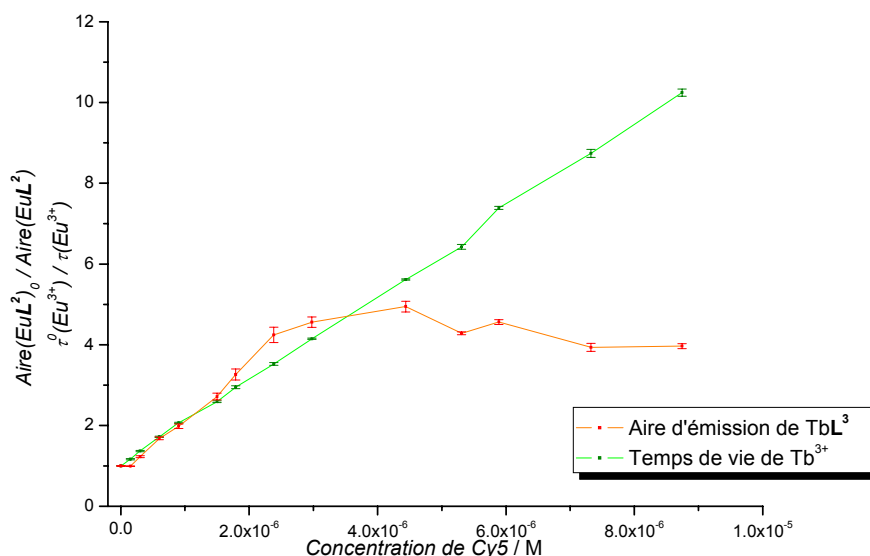


Figure 4.49 : courbes de Stern-Volmer du complexe TbL^3 en présence de Cy5.
 $[TbL^3] = 3.10^{-6}$ M.

Tableau 4.11 : constantes de Stern-Volmer des transferts d'énergie $EuL^2 - Cy5$, $EuL^3 - Cy5$ et $TbL^3 - Cy5$ selon les aires d'émission des complexes et les temps de vie des ions lanthanides.

Complexes	Selon $Aire(LnL)_0 / Aire(LnL)$		Selon $\tau(Ln^{3+})_0 / \tau(Ln^{3+})$	
	Domaines / 10^{-6} M de Cy5	$K_{aire} / M^{-1}.s^{-1}$	$K_{\tau} / M^{-1}.s^{-1}$	Domaines / 10^{-6} M de Cy5
EuL^2	2 - 6	$(1,2 \pm 0,1).10^8$	$(1,95 \pm 0,03).10^7$	2 - 6
	6 - 10	$(3,9 \pm 0,9).10^8$	$(1,4 \pm 0,3).10^7$	6 - 10
EuL^3	0 - 4	$(3,5 \pm 0,1).10^7$	$(1,77 \pm 0,01).10^7$	0 - 4
	4 - 8	$(7,7 \pm 0,6).10^7$	$(1,02 \pm 0,02).10^7$	4 - 8
TbL^3	0 - 3	$(1,34 \pm 0,003).10^7$	$(1,056 \pm 0,001).10^7$	0 - 9

Remarque :

Les domaines 2.10^{-6} M – 6.10^{-6} M et 6.10^{-6} M – 1.10^{-5} M en concentration de Cy5 pour le complexe EuL^2 équivalent au domaine 0.6 – 2 et 2 – 3.5 équivalents en Cy5. Les domaines 0 – 4.10^{-6} M et 4.10^{-6} M – 8.10^{-6} M en concentration de Cy5 pour le complexe EuL^3 équivalent respectivement aux domaines 0 – 1.5 et 1.5 – 3 équivalents en Cy5. Les domaines 0 – 3.10^{-6} M et 0 – 9.10^{-6} M en concentration de Cy5 pour le complexe TbL^3 équivalent aux domaines 0 – 1 et 0 – 3 équivalents en Cy5.

IV.2.3 Transfert d'énergie vers l'accepteur Cy5

Dans le tableau 4.11, les valeurs des constantes de Stern-Volmer déterminées sur la base des aires sont, de manière générale, plus élevées que celles déterminées sur la base des temps de vie, mais elles sont affectées d'une plus grande erreur absolue. Deux constantes de Stern-Volmer ont été déterminées pour les complexes EuL^2 et EuL^3 car leurs courbes présentent un changement de pente notoire, respectivement à $6 \cdot 10^{-6}$ M (2 équivalents) et $4 \cdot 10^{-6}$ M (2 équivalents).

Les rendements des transferts d'énergie pour les trois systèmes sont très grands (figures 4.50-4.52). Celui du système EuL^2 - Cy5 est le plus important, il atteint une valeur supérieure à 90 % au-delà de 1.5 équivalents de Cy5. Ceux des systèmes EuL^3 - Cy5, et TbL^3 - Cy5 atteignent une valeur d'environ 80 % au-delà de 1 équivalent de Cy5, ce qui est également très bon.

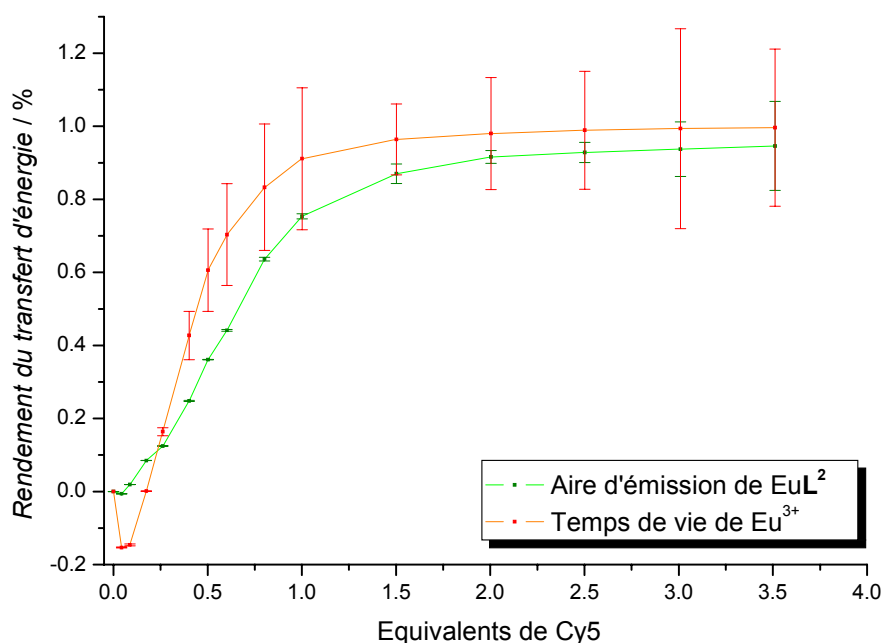


Figure 4.50 : rendement du transfert d'énergie du système EuL^2 – Cy5.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

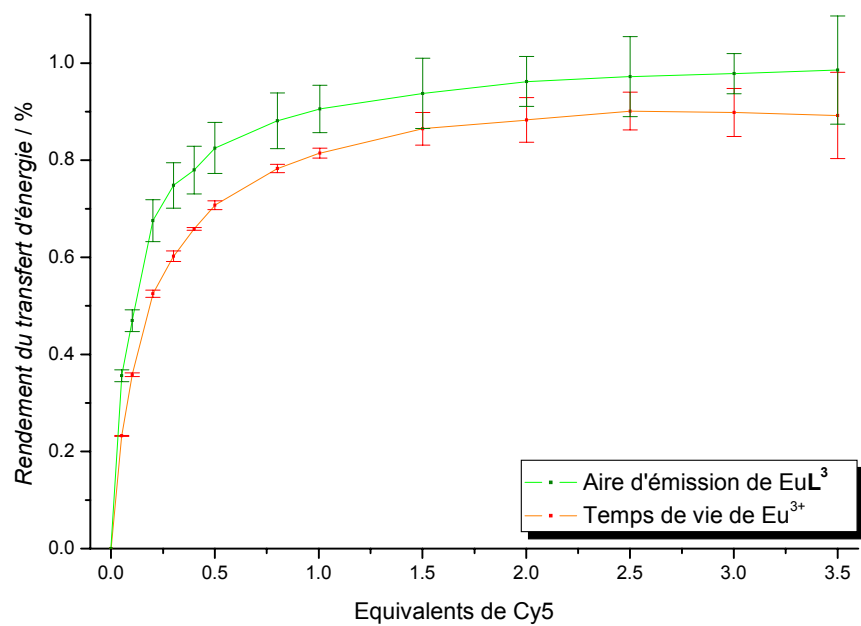


Figure 4.51 : rendement du transfert d'énergie du système $EuL^3 - Cy5$.

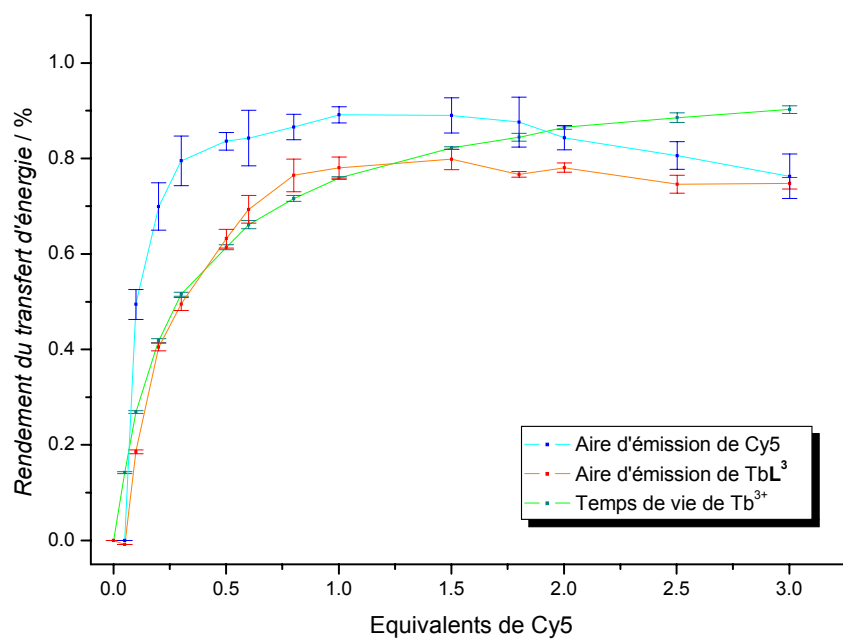


Figure 4.52 : rendement du transfert d'énergie du système $TbL^3 - Cy5$.

IV.2.3 Transfert d'énergie vers l'accepteur Cy5

IV.2.3.2 Influence du pH sur les systèmes EuL2 - Cy5 et EuL3 - Cy5

Le tableau 4.12 résume les variations de l'absorbance du complexe EuL² et de Cy5, de l'aire d'émission de Cy5 et du temps de vie de Eu³⁺, pour 0.3 et 1.2 équivalents de Cy5, selon différents pH.

Tableau 4.12 : absorbance du complexe EuL² à 34722 cm⁻¹ (288 nm) et de Cy5 à 15408 cm⁻¹ (649 nm), aire d'émission de Cy5 (E_{exc} = 35088 cm⁻¹ (285 nm)) et temps de vie de Eu³⁺ (E_{exc} = 35088 cm⁻¹ (285 nm) et E_{an} = 16892 cm⁻¹ (592 nm)), pour 0.3 et 1.2 équivalents de Cy5, et à différents pH.

0.3 équivalents de Cy5				
pH	Abs(EuL ²)	Abs(Cy5)	Aire(Cy5) / U.A.	$\tau(Eu^{3+})$ / ms
8.7	0.031	0.056	1,26.10 ¹⁰	0.370 ±0.002
6.4	0.034	0.045	9,07.10 ⁹	0.424 ±0.005
5.1	0.037	0.041	7,22.10 ⁹	0.396 ±0.002
3.2	0.046	0.045	7,75.10 ⁹	0.375 ±0.005
Variation	+ 15.2 %	- 11.9 %	- 22.9 %	+ 5.4 %
1.2 équivalents de Cy5				
pH	Abs(EuL ²)	Abs(Cy5)	Aire(Cy5) / U.A.	$\tau(Eu^{3+})$ / ms
8.4	0.044	0.25	1,16.10 ¹⁰	0.047 ±0.002
6	0.046	0.24	1,16.10 ¹⁰	0.053 ±0.003
5	0.045	0.24	1,22.10 ¹⁰	0.046 ±0.001
3.2	0.048	0.28	1,30.10 ¹⁰	0.040 ±0.002
Variation	+ 3.2 %	+ 6.5 %	+ 4.7 %	- 9.9 %

Les variations d'absorbance du complexe à 0.3 équivalent de Cy5 sont de 15.2 %, et celles de Cy5 sont de 11.9 % entre les pH 8.7 et 3.2. L'absorbance du complexe augmente lorsque le pH diminue, alors que celle de Cy5 varie de manière aléatoire. L'aire d'émission de Cy5 diminue de 22.9 % avec le pH, alors que la variation du temps de vie de Eu³⁺, de 5.4 %, est désordonnée. L'efficacité du transfert varie donc selon le pH, à cette quantité de Cy5 en solution. Les variations sont plus petites à 1.2 équivalents de Cy5, indiquant une meilleure stabilité du système.

IV. Propriétés des ligands L^1 et L^3 et de leurs complexes

En effet, l'absorbance du complexe varie seulement de 3.2 %, celle de Cy5 varie de 6.5 %, l'aire d'émission de Cy5 varie de 4.7 %, et le temps de vie de Eu^{3+} varie de 9.9 % entre les pH 8.4 et 3.2.

Le transfert d'énergie global, c'est-à-dire, la quantité de lumière absorbée par le complexe comparée à l'émission de Cy5, semble être le plus efficace à pH 8.7, pour 0.3 équivalent de Cy5, car on y observe la valeur de l'aire d'émission de Cy5 la plus élevée, et la valeur d'absorbance du complexe la plus faible. Pour 1.2 équivalents de Cy5, aucune valeur se détachant des autres nous laisse discerner un tel résultat.

Le tableau 4.13 résume les variations de l'absorbance du complexe EuL^3 et de Cy5, de l'aire d'émission de Cy5 et du temps de vie de Eu^{3+} , pour 0.4 et 1.6 équivalents de Cy5, selon différents pH.

Tableau 4.13 : absorbance du complexe EuL^3 à 40322 cm^{-1} (248 nm) et de Cy5 à 15408 cm^{-1} (649 nm), aire d'émission de Cy5 ($E_{exc} = 40322\text{ cm}^{-1}$ (248 nm)) et temps de vie de Eu^{3+} ($E_{exc} = 40322\text{ cm}^{-1}$ (248 nm) et $E_{an} = 16892\text{ cm}^{-1}$ (592 nm)), pour 0.4 et 1.6 équivalents de Cy5, et à différents pH.

0.4 équivalents de Cy5				
pH	Abs(EuL^3)	Abs(Cy5)	Aire(Cy5) / U.A.	$\tau(Eu^{3+})$ / ms
8.6	0.026	0.049	$6,82.10^9$	0.269 ± 0.002
6.5	0.024	0.058	$4,87.10^9$	0.182 ± 0.001
4.8	0.025	0.054	$4,33.10^9$	0.210 ± 0.003
3.5	0.025	0.055	$4,41.10^9$	0.223 ± 0.002
Variation	- 2.8 %	+ 6.0 %	- 19.8 %	- 14.2 %
1.6 équivalents de Cy5				
pH	Abs(EuL^3)	Abs(Cy5)	Aire(Cy5) / U.A.	$\tau(Eu^{3+})$ / ms
8.5	0.034	0.28	$1,31.10^{10}$	0.074 ± 0.001
6.2	0.032	0.27	$9,59.10^9$	0.069 ± 0.001
4.7	0.028	0.27	$1,07.10^{10}$	0.065 ± 0.002
3.3	0.028	0.26	$1,01.10^{10}$	0.071 ± 0.004
Variation	- 8.7 %	- 2.6 %	- 12.4 %	- 4.7 %

IV.2.3 Transfert d'énergie vers l'accepteur Cy5

Les variations d'absorbance du complexe à 0.4 équivalents de Cy5 sont de 2.8 % seulement, et celles de Cy5 sont de 6.0 % entre les pH 8.6 et 3.5. L'absorbance de Cy5 varie de manière aléatoire en fonction du pH. L'aire d'émission de Cy5 diminue de 19.8 % avec le pH, alors que la variation du temps de vie de Eu^{3+} , de 14.2 %, est désordonnée. L'efficacité du transfert varie donc également pour ce système selon le pH, à cette quantité de Cy5 en solution. Les variations sont plus petites à 1.6 équivalents de Cy5, indiquant à nouveau une meilleure stabilité du système. En effet, l'absorbance du complexe varie de 8.7 %, celle de Cy5 varie de 2.6 %, l'aire d'émission de Cy5 varie de 12.4 %, et le temps de vie de Eu^{3+} varie de 4.7 % entre les pH 8.5 et 3.3.

L'étude du transfert d'énergie pour les trois systèmes $\text{EuL}^2 - \text{Cy5}$, $\text{EuL}^3 - \text{Cy5}$ et $\text{TbL}^3 - \text{Cy5}$ fut très bénéfique. En effet, même si nous n'avons pas su interpréter la totalité des résultats, nous avons néanmoins déterminé la quantité de Cy5, par rapport aux complexes, qui est nécessaire afin que le transfert soit optimal (1 à 1.5 équivalents de Cy5), et nous avons également déterminé les rendements de ces transferts, qui sont très bons (au moins 80%), prouvant une bonne interaction entre les complexes et l'accepteur Cy5. Ceci nous montre que la partie photophysique de l'application biomédicale envisagée est réalisable.

Références

- [1] A. Bianchi, L. Calabi, C. Giorgi, P. Losi, P. Mariani, P. Paoli, P. Rossi, B. Valtancoli, M. Virtuani, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2000**, 697.
- [2] K. Kumar, C. A. Chang, L. C. Francesconi, D. D. Dischino, M. F. Malley, J. Z. Gougoutas, M. F. Tweedle, *Inorg. Chem.* **1994**, *33*, 3567.
- [3] M. Kodama, E. Kimura, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1976**, 2403.
- [4] K. N. Raymond, G. Muller, F. Matzanke, *Top. Curr. Chem.* **1984**, *123*, 49.
- [5] L. Alderighi, A. Bianchi, L. Calabi, P. Dapporto, C. Giorgi, P. Losi, L. Paleari, P. Paoli, P. Rossi, B. Valtancoli, M. Virtuani, *Eur. J. Inorg. Chem.* **1998**, 1581.
- [6] A. E. Martell, R. M. Smith, *Critical Stability Constants, Volume 1: Amino Acids*, Plenum Press, New York and London, **1974**.
- [7] G. Zucchi, Thèse de doctorat, Université de Lausanne **2000**.
- [8] G. Zucchi, A.-C. Ferrand, R. Scopelliti, J.-C. G. Bünzli, *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 2459.
- [9] U. Cosentino, A. Villa, D. Pitea, G. Moro, V. Barone, A. Maiocchi, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 4901.
- [10] F. A. Dunand, S. Aime, A. E. Merbach, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 1506.
- [11] J. A. K. Howard, A. M. Kenwright, J. M. Moloney, D. Parker, M. Port, M. Navet, O. Rousseau, M. Woods, *Chem. Commun* **1998**, 1381.
- [12] A. Beeby, I. M. Clarkson, R. S. Dickins, S. Faulkner, D. Parker, L. Royle, A. S. de Sousa, J. A. G. Williams, M. Woods, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1999**, 493.
- [13] W. D. W. Horrocks Jr, D. R. Sudnick, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 334.
- [14] D. F. Eaton, *Pure and Appl. Chem.* **1988**, *60*, 1107.
- [15] A.-S. Chauvin, F. Gumy, D. Imbert, J.-C. G. Bünzli, *Spectrosc. Letters* **2004**, sous presse.
- [16] N. Marmé, J.-P. Knemeyer, M. Sauer, J. Wolfrum, *Bioconjugate Chem.* **2003**, *14*, 1133.
- [17] A. Dietrich, V. Buschmann, C. Müller, M. Sauer, *Reviews in molecular biotechnology* **2002**, *82*, 211.
- [18] J. Chen, P. R. Selvin, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 657.
- [19] S. Sueda, J. Yuan, K. Matsumoto, *Bioconjugate Chem.* **2000**, *11*, 827.

V Conclusions et perspectives

Nous nous sommes essentiellement investis dans la création d'un nouveau complexe de lanthanide luminescent et capable de se coupler à du matériel biologique afin de l'utiliser en tant que sonde dans les dosages fluoroimmunologiques en temps résolu.

Pour cela, nous nous sommes basés sur les complexes LnL^1 et LnL^2 , qui ont la particularité de sensibiliser efficacement les ions Eu(III) , Tb(III) , Sm(III) et Dy(III) . D'après les valeurs des rendements quantiques dans l'eau, les complexes TbL^1 et EuL^2 sont les composés pour lesquels les transferts d'énergie intramoléculaires ligand \rightarrow métal sont les plus efficaces, avec des valeurs respectives de 23.4 % et 17.0 %.

Nous avons ainsi choisi d'élaborer la synthèse d'un ligand, nommé L^3 , dérivé de L^1 , en fonctionnalisant l'un des groupes chromophores en une fonction servant à greffer l'édifice sur du matériel biologique. Le chemin réactionnel qui en ressort est celui par lequel trois bras portant les groupes chromophores sont additionnés au cyclène, puis un quatrième portant la fonction acide carboxylique. Les complexes de Tb(III) , Eu(III) , Gd(III) et Lu(III) avec L^3 ont ensuite été synthétisés.

L'étude thermodynamique en solution des ligands L^1 et L^3 , et de leurs complexes de terbium a permis d'élaborer leurs diagrammes de distribution. La comparaison des espèces présentes à pH 7 pour les deux complexes nous indique que la fonctionnalisation d'un bras neutre en un bras chargé négativement se répercute sur les propriétés acido-basiques des ligands et des complexes. A pH 7, les complexes présentent des formes différentes : la forme principale du complexe TbL^3 contient le ligand neutre alors que l'espèce monoprotonée prédomine pour le complexe TbL^1 . Les propriétés de luminescence sont ainsi également modifiées, et les variations du rendement quantique des deux complexes en fonction du pH divergent. On observe notamment, à pH neutre, une augmentation du rendement quantique du complexe TbL^1 alors que celui du complexe TbL^3 diminue fortement. D'autre part, les constantes de formation des complexes TbL^1 , EuL^1 et TbL^3

V. Conclusions et perspectives

dans l'eau ont montré que ces molécules sont thermodynamiquement stables en milieu aqueux. En effet, les valeurs de leur pM sont : $pTb(L^1) = 9.4$, $pTb(L^3) = 12.6$ et $pEu(L^1) = 7.5$.

La caractérisation du complexe EuL^3 à l'état solide par luminescence à haute résolution a permis de déterminer la géométrie de la sphère de coordination de l'ion $Eu(III)$, qui est de type C_4 distordue, proche de celle du complexe EuL^1 . L'étude détaillée des transitions de l'ion $Eu(III)$ a mis en évidence l'existence de deux sites différents, provenant probablement de l'équilibre causé par la compétition entre une molécule d'eau et la fonction carboxylate du bras fonctionnalisé. Ce phénomène est à nouveau mis en évidence lors de la détermination des temps de vie des ions $Tb(III)$ et $Eu(III)$ et du nombre d'hydratation du complexe en solution aqueuse, d'une valeur de 0.55 à pH 7.5.

La détermination en solution des énergies des états singulet et triplet du ligand et des niveaux émetteurs des ions $Ln(III)$ dans les complexes a mis en évidence que leurs positions relatives sont propices à un bon transfert d'énergie intramoléculaire. De plus, l'état singulet du ligand n'est observable qu'à basse température. Les rendements quantiques des complexes TbL^3 et EuL^3 , de valeurs respectives 2.6 % et 1.4 %, le confirment. Par contre, ces derniers sont plus faibles que ceux des complexes avec le ligand L^1 , dénotant que la présence de la fonction acide augmente les pertes dans le transfert d'énergie, mais restent néanmoins appréciables pour des applications biomédicales.

Ainsi, la fonction carboxylate ne semble pas perturber la structure générale du complexe mais influence l'environnement direct de l'ion $Ln(III)$, et modifie sensiblement les propriétés photophysiques des complexes luminescents.

L'étude du transfert d'énergie intermoléculaire des complexes EuL^1 , EuL^3 et TbL^3 vers l'accepteur Cy5 s'est avérée très positive, puisque les rendements sont de 90% pour le complexe EuL^1 et de 80 % pour les complexes du ligand L^3 .

Pour compléter ces résultats très encourageants, il faudrait par la suite tester la réaction de greffage des complexes EuL^3 et TbL^3 sur du matériel biologique, puis observer si des changements interviennent concernant leur luminescence.

Des fonctions de greffage autres que la fonction acide carboxylique pourraient être incorporées au ligand L^1 , comme les fonctions isocyanatophényle, ou ester de succinimide, ou encore SO_2Cl , qui ont l'avantage de rester neutres. Elles ne causeraient peut-être pas une diminution du rendement quantique par leur insertion dans la sphère de coordination du métal.

L'élaboration d'un ligand dérivé du ligand L^2 et l'étude de ses complexes de lanthanides représentent un projet fort intéressant pour la création d'un nouveau marqueur luminescent à base d'ion Eu(III) dans les dosages fluoroimmunologiques en temps résolu.

VI Partie expérimentale

VI.1 Solvants et réactifs

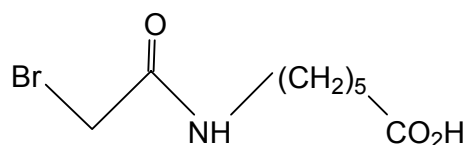
Les solvants et réactifs sont fournis par Aldrich, Fluka et Acros. Le cyclène est fourni par Strem. Les solvants sont séchés par distillation sur CaH_2 pour CH_2Cl_2 et CH_3CN , sur sodium/benzophénone pour le THF et sur potasse pour NEt_3 .

Les triflates (trifluorométhanesulfonates) de lanthanides ont été préparés à partir des oxydes (Rhodia Terres Rares 99.99 %) et de l'acide triflique. La teneur en Ln(III) a été obtenue par titrage complexométrique ($\text{Na}_2\text{EDTA-H}_2$) en présence de xylène orange et d'urotropine.

VI.2 Modes opératoires

VI.2.1 Synthèse

N-(carboxypentyl)-bromoacétamide, **1**.^[1]



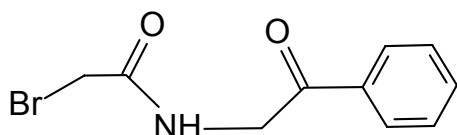
L'acide 6-aminocaprique (13.12 g, 0.10 mol) est dissous dans 100 ml d'eau. La solution est refroidie dans un bain de glace. Le bromure de bromoacétyle (9.55 ml, 0.11 mol) est ajoutés goutte à goutte tout en maintenant le pH à 7 à l'aide d'une solution de NaOH 4 N (environ 50 ml sont nécessaires). Après addition de tout le bromure de bromoacétyle, la solution est agitée pendant 15 minutes, et le pH est ensuite ajusté à 2 avec HBr 47 % aqueux. La solution est concentrée jusqu'à un volume d'environ 30 ml, et est ensuite extraite par de l'éther. Les phases organiques sont réunies et séchées sur MgSO_4 anhydre. L'éther est évaporé et l'on obtient un solide blanc. Environ 50 ml d'éther sont ajoutés et la solution est stockée deux jours au froid (-18°C), où **1** (2.52 g, rend. 10 %) précipite sous forme d'un solide blanc, puis est filtré.

VI. Partie Expérimentale

Point de fusion : 72°C.

RMN (CDCl_3 , Me_4Si): δ_{H} 1.5-1.8 (m, 6H) 2.3 (t, 2H, $^3J = 14.4$ Hz) 3.3 (m, 2H) 3.9 (s, 2H) 6.7 (broad, 1H)

N-(phénylacétyl)-bromoacétamide, **2**.^[2]

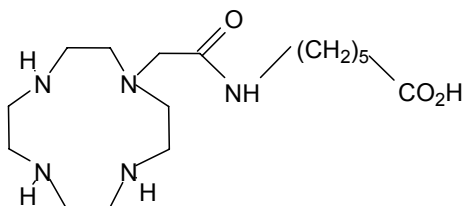


De l'hydrochlorure de phénylacétylamine (1.0 g, 5.8 mmol), dissout dans 30 ml de CH_2Cl_2 , est ajouté à une solution aqueuse de NaOH (0.466 g, 11.7 mmol). Le mélange réactionnel est refroidi dans un bain de glace. Du bromure de bromoacétyl (0.569 ml, 5.8 mmol) en solution dans 10 ml de CH_2Cl_2 est ajoutés goutte à goutte. La solution est agitée pendant 30 minutes à 0 °C, puis 1h30 à température ambiante. La phase aqueuse est extraite quatre fois par 10 ml de CH_2Cl_2 , les phases organiques sont ensuite rassemblées et lavées trois fois par 50 ml d'eau, séchées sur Na_2SO_4 , puis évaporées. Le résidu est recristallisé dans un minimum de MeOH à chaud, et l'on obtient le produit **2** (891 mg, 3.5 mmol, rend. 60 %) sous forme de solide cristallin blanc, voire légèrement coloré.

RMN (CDCl_3 , Me_4Si): δ_{H} 4.0 (s, 2H) 4.8 (d, 2H, $^3J = 4.2$ Hz) 7.5 (t, 2H, $^3J = 7.6$ Hz) 7.6 (large, 1H) 7.65 (t, 1H, $^3J = 7.6$ Hz) 7.99 (d, 2H, $^3J = 7.6$ Hz).

Analyse élémentaire : observé : 46.77 % C, 3.99 % H, 5.48 % N
calculé pour **2** ($\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_2\text{NBr}$) : 46.90 % C, 3.94 % H, 5.47 % N.

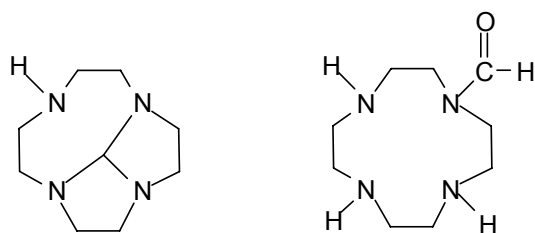
[*N*-(carboxypentyl)carbamoylméthyl]-1,4,7,10-tétraazacyclododécane, **3**.



Du cyclène (484 mg, 2.81 mmol) est dissous dans 10 ml de chloroforme. Puis 10 ml de solution du bras **1** (138 mg, 0.55 mmol) dans le chloroforme sont ajoutés à l'aide d'une seringue automatique en 3 heures environ. La solution est agitée durant une nuit, puis le solvant est évaporé, et le résidu est dissout dans l'éthanol. 2 ml environ de HCl 37 % sont ajoutés et le tétrahydrochlorure de cyclène précipite, et est ensuite filtré. Le filtrat est évaporé et le résidu est soumis à une chromatographie sur silice (CHCl₃ / MeOH / NH₃ à 25 % : 2 / 2 / 1). Le composé **3** (100 mg, 0.29 mmol, rend. 53 %) est obtenu sous forme d'un liquide sirupeux qui se solidifie après séchage sous vide.

RMN (D₂O): δ_H 1.2 (m, 2H) 1.4 (m, 4H) 2.1 (t, 2H, $^3J = 14.5$ Hz) 2.5-3.1 (m, 18H) 3.3 (s, 2H)
ESI / MS: $m/z = 344$ [**3** + H]⁺.

1,4,7,10-tétraazatricyclo[5.5.1.0]tridécane, **5**, et 1-formyl-1,4,7,10-tétraazacyclododécane, **6**.^[3, 4]



Une solution contenant 5g (29 mmol) de cyclène, 70 ml de toluène anhydre et 3.92 ml (30.45 mmol, 30.5 mmol) de N,N-diméthylformamide diméthylacétal, disposée dans un ballon équipé d'un condensateur de type Dean-Stark et placée sous atmosphère inerte (N₂), est chauffée de manière à faire distiller l'azéotrope méthanol / toluène formé, qui est recueilli dans le Dean-Stark puis retiré. La distillation est poursuivie jusqu'à l'élimination totale du toluène. On obtient une huile jaune qui est le produit **5** ; celui-ci est séché pendant une nuit sous vide, à 70 °C.

Le produit **5** est ensuite placé dans un bain de glace, il se trouve alors sous forme d'une huile figée ; 25 ml d'un mélange eau / éthanol (1/1) sont ajoutés goutte à goutte, le bain de glace est enlevé et le mélange est laissé sous agitation pendant 24 heures, pour donner le produit **6** qui est une solution jaune. Les solvants sont évaporés et le produit **6** (5.575 g, rend. 95 %) est dissout

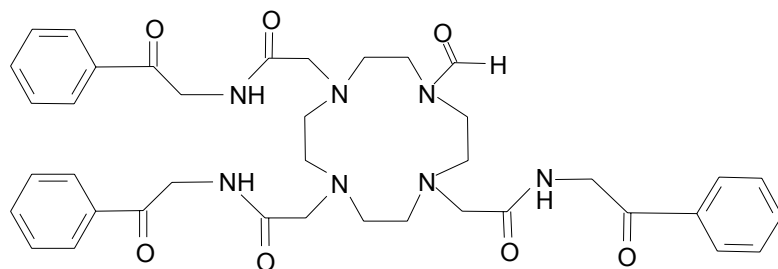
VI. Partie Expérimentale

dans un peu d'acétonitrile, qui est ensuite évaporé, ceci trois fois afin d'éliminer les traces d'eau. Le produit est séché sous vide, et l'on obtient un solide blanc.

RMN (CD_3CN): δ_{H} 2.6-2.7 (m, 8H) 3.4 (dt, 8H, $^2J = 20.2$ Hz, $^3J = 5.5$ Hz) 8.0 (s, 1H).

IR (ATR): 3312 cm^{-1} , w, $\nu(\text{N-H})$; 2811 cm^{-1} , m, $\nu(\text{C-H}$ méthylénique) (et $\nu(\text{C-H}$ aldéhyde) faible); 1656 cm^{-1} , s, $\nu(\text{C=O}$ aldéhyde); 1444 cm^{-1} , m, $\delta(\text{C-H}$ méthylénique); 1127 cm^{-1} , m, $\delta(\text{C=O}$ aldéhyde).

1-formyl-4,7,10-tri[(*N*-(4-phénylacétyl)carbamoylméthyl)]-1,4,7,10-tétraazacyclododécane, **7**.

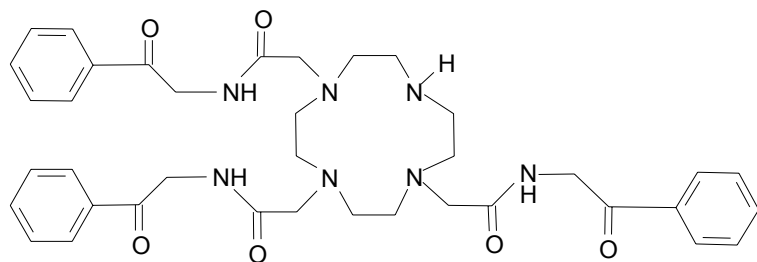


Le produit **6** (3.780 g, 189 mmol) est dissous dans 100 ml de THF anhydre. De la triéthylamine distillée (8.160 ml, 586 mmol) y est ajoutée et la solution jaune pâle est laissée sous agitation, et sous atmosphère inerte, pendant 1 heure. Une solution de bras **2** (15.0 g, 586 mmol) dans 100 ml de THF anhydre est ensuite ajoutée, la solution devient jaune clair, avec une suspension. Le mélange est laissé sous agitation pendant deux jours, la solution est alors beige et opaque, et elle contient un précipité blanc, le sel de bromure de triéthylamine. Le précipité est filtré. La solution est ensuite concentrée et le produit **7** (9.374 g, rend. 65 %) est précipité par de l'éther, à deux reprises, sous forme d'un solide beige.

RMN (CDCl_3 , Me_4Si) : δ_{H} 2.8-3.3 (m, 16H) 3.7 (s, 1H) 3.8 (s, 1H) 4.6 (d, 2H, $^3J = 4.4$ Hz) 4.7 (d, 2H, $^3J = 5$ Hz) 4.7 (d, 2H, $^3J = 5.2$ Hz) 7.3-8.0 (m, 15H) 8.1 (s, 1H)

ESI / MS: $m/z = 726$ [**7** + H] $^+$; 748 [**7** + Na] $^+$.

1,4,7-tri[(*N*-(4-phénylacétyl)carbamoylméthyl)]-1,4,7,10-tétrazacyclodo-décane, **4**.



Le produit **7** (7.409 g, 102 mmol) est dissous dans un mélange composé de 75 ml d'acétone et 40 ml d'eau, puis est refroidi dans un bain de glace. HCl 37 % (45 ml) est ajoutés goutte à goutte, et le mélange réactionnel est laissé sous agitation, à température ambiante, pendant 4 jours. La solution est orange. Environ 500 ml de solution saturée en NaHCO₃ sont ajoutés pour fixer le pH du milieu à 7, puis celui-ci est extrait trois fois par 400 ml de CH₂Cl₂. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO₄, filtrées, et le CH₂Cl₂ est évaporé. On obtient une huile orange qui, lorsqu'elle est séchée sous vide, devient un solide orange. Ce solide est dissout à chaud dans un minimum d'acétonitrile, et le produit **4** (3.150 g, rend. 45 %) est isolé par deux précipitations successives par le tert-butylméthyl éther ; après séchage, on obtient un solide orange.

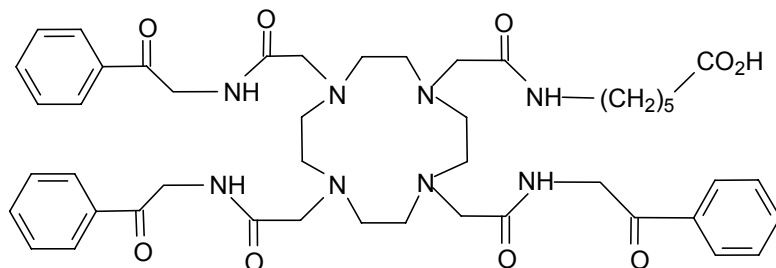
RMN (CD₃CN): δ_H 2.8 (s, 10H) 2.9 (s, 6H) 3.3 (s, 4H) 3.3 (s, 2H) 4.5 (d, 4H, $^3J = 5.4$ Hz) 4.6 (d, 2H, $^3J = 5.5$ Hz) 7.4-7.9 (m, 15H) 8.0 (s, 1H).

IR (ATR): 3290 cm⁻¹, w, br, ν (N-H) ; 3060 cm⁻¹, w, ν (C-H arom.) ; 2924 cm⁻¹, w, ν (C-H méthylénique) ; 2831 cm⁻¹, w, ν (C-H méthylénique) ; 1695 cm⁻¹, s, ν (C=O phénacyle) ; 1652 cm⁻¹, s, ν (C=O amide) ; 1596 cm⁻¹, m, ν (C=C arom.) ; 1579 cm⁻¹, w, ν (C=C arom.) ; 1525 cm⁻¹, s, ν (C=C arom.) + ν (C=O amide) ; 1448 cm⁻¹, s, δ (C-H méthylénique) ; 1221 cm⁻¹, s, δ (C-O) ; 755 cm⁻¹, s, δ (C-H arom.) ; 688 cm⁻¹, s, δ (C-H arom.).

ESI / MS: $m/z = 698$ [**4** + H]⁺ ; 349 [**4** + 2H]²⁺.

VI. Partie Expérimentale

1,4,7-tri[*N*-(4-phénylacétyl)carbamoylméthyl]-10-[*N*-(carboxypentyl)carbamoylméthyl]-1,4,7,10-tétraazacyclododécane, ligand **L**³.



Le produit **4** (1.383 g, 2 mmol) est mélangé à Cs₂CO₃ (0.646 g, 2 mmol) dans 200 ml d'acétonitrile anhydre. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation, et sous atmosphère inerte, pendant 30 minutes. Une solution de bras **1** (0.475 g, 2 mmol) dans 100 ml d'acétonitrile anhydre est ensuite ajoutée. Le mélange est laissé sous agitation pendant trois jours, la solution est alors jaune et contient un précipité blanc, qui est filtré. La solution est évaporée et séchée sous vide, et l'on obtient un solide jaune. Le ligand **L**³ (0.516 g, rend. 30 %) est purifié à l'aide de deux colonnes à échange d'ions (résine à cations Dowex 50W X 8 et résine à Cl⁻ Amberlite).

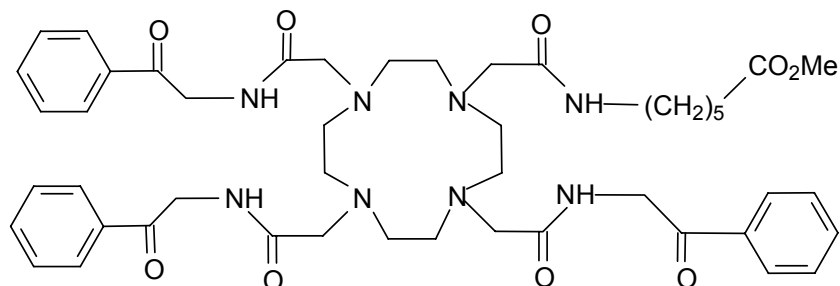
RMN (CD₃CN): δ_H 1.1 (m, 2H) 1.2 (m, 2H) 1.4 (m, 2H) 2.1 (t, 2H, $^3J = 5.5$ Hz) 2.8-3.0 (m, 18H) 3.4 (s, 2H) 3.5 (s, 4H) 3.5 (s, 2H) 4.4 (d, 2H, $^3J = 5.5$ Hz) 4.5 (d, 4H, $^3J = 5.3$ Hz) 7.4-7.8 (m, 15H).

IR (ATR): 3300 cm⁻¹, w, br, ν (O-H) + ν (N-H) ; 3062 cm⁻¹, w, ν (C-H arom.) ; 2933 cm⁻¹, w, ν (C-H méthylénique) ; 2854 cm⁻¹, w, ν (C-H méthylénique) ; 2831 cm⁻¹, w, ν (C-H méthylénique) ; 1694 cm⁻¹, m, ν (C=O phénacyle) ; 1657 cm⁻¹, s, ν (C=O acide) ; 1652 cm⁻¹, s, ν (C=O amide) ; 1596 cm⁻¹, m, ν (C=C arom.) ; 1579 cm⁻¹, w, ν (C=C arom.) ; 1544 cm⁻¹, sh, ν (C=O acide) ; 1530 cm⁻¹, s, ν (C=C arom.) + ν (C=O amide) ; 1448 cm⁻¹, m, δ (C-H méthylénique) ; 1222 cm⁻¹, s, δ (C-O) ; 755 cm⁻¹, s, δ (C-H arom.) ; 688 cm⁻¹, s, δ (C-H arom.).

ESI / MS: $m/z = 869$ [**L**³ + H]⁺ ; 435 [**L**³ + 2H]²⁺.

Analyse élémentaire : observé : 58.73 % C, 7.01 % H, 12.06 % N ; calculé pour **L**³.2(H₂O).HCl (C₄₆H₆₅ClN₈O₁₁) : 58.68 % C, 6.96 % H, 11.90 % N.

1,4,7-tri[*N*-(4-phénylacétyl)carbamoylméthyl]-10-[*N*-(méthanoatopentyl)carbamoylméthyl]-1,4,7,10-tétraazacyclododécane, ligand **L**⁴.



Le ligand **L**³ (0.1g, 0.11 mmol) est dissout dans 40 ml de méthanol anhydre puis porté à reflux pendant une nuit. La solution est évaporée et le ligand **L**⁴ (0.042 g, rend. 43 %) est isolé par recristallisation dans l'acétonitrile à chaud.

RMN (CD₃CN): δ_H 1.1 (m, 2H) 1.2 (m, 2H) 1.3 (m, 2H) 2.1 (t, 2H, $^3J = 5.5$ Hz) 2.8-3.0 (m, 18H) 3.4 (s, 2H) 3.5 (s, 4H) 3.5 (s, 2H) 3.67 (s, 3H) 4.4 (d, 2H, $^3J = 5.5$ Hz) 4.5 (d, 4H, $^3J = 5.3$ Hz) 7.4-7.8 (m, 15H).

ESI / MS: $m/z = 884$ [**L**⁴ + H]⁺ ; 443 [**L**⁴ + 2H]²⁺.

Analyse élémentaire : observé : 60.40 % C, 7.03 % H, 11.99 % N ; calculé pour **L**⁴.H₂O.HCl (C₄₇H₆₅ClN₈O₁₀) : 60.21 % C, 6.99 % H, 11.95 % N.

Complexes de lanthanide avec le ligand **L**³, [Ln(**L**³)] [CF₃SO₃]₃

De manière générale, 1 équivalent de sel de triflate de lanthanide est ajouté à une solution de ligand **L**³ dans l'acétonitrile. Le mélange est ensuite porté à reflux pendant trois jours. La solution est concentrée et le complexe de lanthanide est isolé par précipitation avec CH₂Cl₂. Le solide filtré est séché sous vide.

IR de [Tb(**L**³)] [CF₃SO₃]₃ (ATR) :

3548 cm⁻¹, s, ν (O-H non associé) ; 3473 cm⁻¹, s, ν (O-H) ; 3414 cm⁻¹, s, ν (O-H ponts H) ; 3241 cm⁻¹, sh, ν (N-H) ; 2926 cm⁻¹, w, ν (C-H méthylénique) ; 2857 cm⁻¹, w, ν (C-H méthylénique) ; 1687 cm⁻¹, m, sh, ν (C=O phénacyle) ; 1656 cm⁻¹, m, sh, ν (C=O acide) ; 1651 cm⁻¹, m, sh, ν (C=O

VI. Partie Expérimentale

amide) ; 1637 cm^{-1} , s, $\nu(\text{C=O amide})$, 1619 cm^{-1} , s, $\nu(\text{C=O amide})$, 1598 cm^{-1} , m, sh, $\nu(\text{C=C arom.})$; 1574 cm^{-1} , m, sh, $\nu(\text{C=C arom.})$; 1564 cm^{-1} , m, sh, $\nu(\text{C=C arom.})$; 1551 cm^{-1} , m, sh, $\nu_{\text{as}}(\text{C-O}^- \text{ carboxylate})$; 1536 cm^{-1} , w, sh, $\nu(\text{C=C arom.}) + \nu(\text{C=O amide})$; 1451 cm^{-1} , w, $\delta(\text{C-H méthylénique})$; 1405 cm^{-1} , m, $\nu_{\text{s}}(\text{C-O}^- \text{ carboxylate})$; 1279 cm^{-1} , m, sh, $\nu(\text{S-O triflate})$; 1260 cm^{-1} , m, $\nu(\text{C-F triflate})$; 1170 cm^{-1} , w, $\nu(\text{C-F triflate})$; 1033 cm^{-1} , m, $\nu(\text{S-O triflate})$; 762 cm^{-1} , w, $\delta(\text{C-H arom.})$; 691 cm^{-1} , w, $\delta(\text{C-H arom.})$; 639 cm^{-1} , m, $\delta(\text{S-O triflate})$.

Tableau 1 : Analyse élémentaire des complexes. Valeurs calculées entre parenthèses.

Composé	Formule brute	% C	% H	% N
$[\text{Tb}(\text{L}^3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]_3 \cdot 0.5\text{CH}_3\text{CN} \cdot 6.5\text{H}_2\text{O}$	$\text{C}_{51}\text{H}_{75}\text{F}_9\text{N}_9\text{O}_{24}\text{S}_3\text{Tb}$	37.24 (36.99)	4.66 (4.40)	7.38 (7.55)
$[\text{Eu}(\text{L}^3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	$\text{C}_{49}\text{H}_{72}\text{F}_9\text{N}_8\text{O}_{24}\text{S}_3\text{Eu}$	37.52 (37.34)	4.79 (4.60)	6.95 (7.11)
$[\text{Gd}(\text{L}^3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	$\text{C}_{49}\text{H}_{72}\text{F}_9\text{N}_8\text{O}_{24}\text{S}_3\text{Gd}$	37.33 (37.21)	4.75 (4.59)	6.96 (7.08)
$[\text{Lu}(\text{L}^3)][\text{CF}_3\text{SO}_3]_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$\text{C}_{49}\text{H}_{74}\text{F}_9\text{N}_8\text{O}_{25}\text{S}_3\text{Lu}$	36.45 (36.39)	4.76 (4.61)	6.54 (6.93)

VI.2.2 Rendements quantiques

Mesures des rendements quantiques des complexes de lanthanides avec les ligands L^1 et L^2 (cf. II. Compléments de l'étude photophysique en solution des complexes contenant les ligands L^1 et L^2)

Les rendements quantiques des complexes LnL^1 ($\text{Ln} = \text{Sm}, \text{Eu}, \text{Tb}, \text{Dy}$) et LnL^2 (Sm, Eu) ont été déterminés dans l'eau non dégazée par rapport à plusieurs références. Les complexes d'euporium et de samarium ont été mesurés par rapport à la rhodamine 101 et au violet de crésyle qui absorbent dans le même domaine de longueur d'onde et les complexes de terbium et de dysprosium par rapport au sulfate de quinine et au 9,10-diphénylanthracène.

La concentration des complexes est de l'ordre de $2 \cdot 10^{-6}\text{ M}$.

Tableau 2 : valeurs des rendements quantiques absolus des références.^[5]

Nom de la substance	Solvant	$\Phi_{\text{abs}} (\%)$	n_D^{20}
Sulfate de quinine	H ₂ SO ₄ 0.5M	54.6	1.338
9,10-diphénylanthracène	<i>n</i> -Hexane	90 ± 0.02	1.425
Rhodamine 101	Ethanol	100	1.361
Violet de crésyle	Méthanol	54	1.328

$$n_D^{20}(\text{EuL}^5) = n_D^{20}(\text{EuL}^6) = n_D^{20}(\text{SmL}^5) = n_D^{20}(\text{SmL}^6) = n_D^{20}(\text{TbL}^5) = n_D^{20}(\text{DyL}^5) = 1.332$$

Ils ont été calculés en utilisant les équations (1) et (3)^[6] lorsque le complexe et la référence ont la même absorbance, et selon les équations (2) et (3) lorsque le complexe et la référence ont des absorbances différentes :

$$\phi_{\text{rel}}(\text{compl.}) = \frac{A(\text{réf.})}{A(\text{compl.})} \times \left(\frac{n_D^{20}(\text{compl.})}{n_D^{20}(\text{réf.})} \right)^2 \times \frac{S(\text{compl.})}{S(\text{réf.})} \quad (1)$$

$$\phi_{\text{rel}}(\text{compl.}) = \left(\frac{1 - 10^{-A(\text{réf.})}}{1 - 10^{-A(\text{compl.})}} \right) \times \left(\frac{n_D^{20}(\text{compl.})}{n_D^{20}(\text{réf.})} \right)^2 \times \frac{S(\text{compl.})}{S(\text{réf.})} \quad (2)$$

$$\phi_{\text{abs}}(\text{compl.}) = \phi_{\text{rel}}(\text{compl.}) \times \phi_{\text{absolu}}(\text{réf.}) \quad (3)$$

où A représente l'absorbance, n l'indice de réfraction et S l'aire d'émission.

La luminescence a été mesurée à température ambiante sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer LS-50B, en prenant les conditions suivantes :

Paramètres de la lampe : mode phosphorescence, délai 0 ms, temps d'enregistrement 20 ms, durée de cycle 200 ms, nombre de flash 5.

Les fentes d'excitation et d'émission étaient ajustées en fonction de l'intensité d'émission des molécules, et elles avaient toujours la même valeur pour la mesure d'un complexe et de sa référence, à une même longueur d'onde.

VI. Partie Expérimentale

Mesures des rendements quantiques des complexes TbL^1 , TbL^3 et EuL^3 (cf. IV.2.2 *Caractérisation des complexes en solution*)

Les rendements quantiques des complexes TbL^1 , TbL^3 et EuL^3 ont été mesurés dans l'eau non dégazée par rapport à plusieurs références. Le sulfate de quinine a été utilisé comme référence pour le rendement quantique des complexes de terbium. La rhodamine 101 et le violet de crésyle ont servi de références pour le rendement quantique du complexe d'euporium. Le complexe $\text{Eu}(\text{dpa})_3$, comportant trois ligands acide dipicolinique a été utilisé comme référence pour le rendement quantique des complexes de terbium et d'euporium.

Les rendements quantiques des complexes TbL^1 et TbL^3 ont été déterminés en fonction du pH par rapport au sulfate de quinine. Nous avons mesuré l'absorbance et l'émission des solutions utilisées pour réaliser les diagrammes de distribution des complexes, qui ont été diluées d'un facteur 5 afin que leur absorbance soit inférieure à 0.1.

Les valeurs ont été calculées à partir des deux équations évoquées ci-dessus, pour les complexes avec les ligands L^1 et L^2 . La concentration des complexes est de l'ordre de 2.10^{-6} M.

La luminescence a été mesurée à température ambiante sur un spectrofluorimètre Fluorolog 3 Jobin Yvon Horiba, en prenant les conditions suivantes :

Paramètres de la lampe : mode phosphorescence, délai 0.010 ms, temps d'enregistrement 50 ms, durée de cycle 200 ms, nombre de flash 1.

Les fentes d'excitation et d'émission étaient ajustées en fonction de l'intensité d'émission des molécules, et elles avaient toujours la même valeur pour la mesure d'un complexe et de sa référence, à une même longueur d'onde.

VI.2.3 Etudes thermodynamiques

Les parties expérimentales des constantes d'acidité et des diagrammes de distribution des ligands et des complexes, ainsi que celle de la constante de complexation de EuL^3 sont décrites au cas par cas dans la partie IV.

VI.3 Méthodes de caractérisation

VI.3.1 Résonance magnétique nucléaire (RMN)

Les spectres proton ont été réalisés sur les appareils de résonance magnétique nucléaire Bruker AM 360 (360MHz) et Bruker DRX 400 (400 MHz).

VI.3.2 Spectroscopie UV-visible

Les spectres UV-visible ont été enregistrés sur le spectromètre Perkin-Elmer Lambda 900 dans des cuves de 1 cm, 0.2 cm ou 0.1 cm d'épaisseur en quartz Suprasil[®], et sur le spectromètre à barrettes de diodes du type TIDAS de J&M[®] à l'aide d'une sonde d'immersion de chemin optique de 1 cm ou 0.1 cm.

Les données des titrages par absorption UV-visible ont été traitées par le logiciel Specfit[®].

VI.3.3 Infrarouge

Les mesures de spectroscopie vibrationnelle infrarouge ont été effectuées sur poudre avec un appareil ATR Spectrum One FT-IR Perkin-Elmer.

VI.3.4 Analyses élémentaires

Les analyses élémentaires ont été effectuées par le Dr. H. Eder de l'université de Genève.

VI.3.5 Spectrométrie de masse

Les spectres de masse ES-MS ont été effectués sur un appareil Finnigan SSQ-710C.

VI.3.6 Luminescence

Les mesures des rendements quantiques de la partie II ont été effectuées sur un spectrofluorimètre Perkin-Elmer LS-50B équipé d'un porte-échantillon spécialement conçu pour les mesures à basse température (refroidissement à 77 K par de l'azote liquide). Les mesures en solution à température ambiante ont été réalisées dans des cuves de 1 cm d'épaisseur en quartz Suprasil[®] et celles à 77 K ont été effectuées dans des capillaires en quartz synthétique.

Les mesures de luminescence à basse résolution de la partie IV ont été effectuées sur un spectrofluorimètre Fluorolog 3 Jobin Yvon Horiba équipé d'un porte-échantillon spécialement conçu pour les mesures à basse température (refroidissement à 77 K par de l'azote liquide). Les mesures en solution à température ambiante ont été réalisées dans des cuves de 1 cm, 0.2 cm ou 0.1 cm d'épaisseur en quartz Suprasil[®] et celles à 77 K ont été effectuées dans des capillaires en quartz synthétique.

Les deux appareils comportent des filtres pouvant absorber l'émission du signal supérieur à diverses énergies, permettant ainsi d'éviter d'observer la bande de diffusion de Rayleigh, ainsi que des atténuateurs laissant passer seulement 1 % ou 2 % du signal, en cas de saturation.

Les mesures à haute résolution ont été réalisées par Frédéric Gumy et le Dr. Daniel Imbert à l'aide d'une lampe xénon couplée à un monochromateur à réseaux pour les mesures à excitation non sélective (bande large). La mesure des temps de vie par excitation directe des niveaux $\text{Eu}({}^5\text{D}_0)$ et $\text{Tb}({}^5\text{D}_4)$ se fait à partir d'un laser pulsé couplé à un laser à colorant. Un laser continu à argon (Coherent Innova 90) couplé à un laser à colorant permet l'excitation sélective (précision ± 0.01 nm) du niveau ${}^5\text{D}_0$ de l'ion $\text{Eu}(\text{III})$.^[7]

Références

- [1] H. Yamada, F. Uozumi, A. Ishikawa, T. Imoto, *J. Biochem.* **1984**, *95*, 503.
- [2] G. Zucchi, A.-C. Ferrand, R. Scopelliti, J.-C. G. Bünzli, *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 2459.
- [3] J. Platzek, P. Blaszkiewicz, H. Gries, P. Luger, G. Michl, A. Müller-Fahrnow, B. Radüchel, D. Sülzle, *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 6086.
- [4] D. D. Dischino, E. J. Delaney, J. E. Emswiler, G. T. Gaughan, J. S. Prasad, S. K. Srivastava, M. F. Tweedle, *Inorg. Chem.* **1991**, *30*, 1265.
- [5] D. F. Eaton, *Pure and Appl. Chem.* **1988**, *60*, 1107.
- [6] C. L. Renschler, L. A. Harrah, *Anal. Chem.* **1983**, *55*, 798-800.
- [7] R. Rodriguez-Cortina, F. Avecilla, C. Platas-Iglesias, D. Imbert, J.-C. G. Bünzli, A. de Blas, T. Rodriguez-Blas, *Inorg. Chem.* **2002**, *41*, 5336.

VII Annexes

VII.1 Abréviations

β	constante globale de réaction
δ	déplacement chimique en RMN (ppm)
μ s	microseconde
Å	Angström
acac	acétylacétone
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
BHHCT	(4,4'-bis (1'',1'',1'',2'',2'',3'',3''-heptafluoro-4'',6''-hexanedion-6''-yl)chlorosulfo- <i>o</i> -terphényl)
btfa	benzoyltrifluoroacétone
bzac	benzoylacétone
CAPHC	1-[1-carboxamido-3-(4-aminophényl)propyl]-4,7,10-tris(2-hydroxyéthyl)-1,4,7,10-tétraazacyclododécane
CI	conversion interne
CIPHC	1-[1-carboxamido-3-(4-isothiocyanatophényl)propyl]-4,7,10-tris(2-hydroxyéthyl)-1,4,7,10-tétraazacyclododécane
CIS	conversion intersystème
cm	centimètre
dbm	dibenzoylméthane
DELFA	Dissociation Enhancement Lanthanide FluoroImmunoAssay
DMSO	diméthylsulfoxyde
DO3A	1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7-acide triacétique
DOTA	1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10- acide tétraacétique
dpa	acide dipicolinique
dpm	dipivaloylméthane
DTMA	1,4,7,10-tétrakis(méthylcarbamoylméthyl)-1,4,7,10-tétraazacyclododécane

VII. Annexes

dtpa	diethylenepentaacetic acid
dtpa-pAS	<i>p</i> -aminosalicylate-dtpa
ES-MS	ElectroSpray Mass Spectroscopy
FIA	FluoroImmunoAssay
FRET	Fluorescence Resonance Energy Transfer
hfaa	hexafluoroacétylacétone
IR	Infra-rouge
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
K	Kelvin
<i>K</i>	constante liée à une réaction chimique
LMCT	Ligand-to-Metal Charge Tansfer
M	Mol.L ⁻¹
min	minute
MLCT	Metal-to-Ligand Charge Transfer
ms	milliseconde
nm	nanomètre
2-NTA	2-naphtoyltrifluoroacétone
PA-dota	1-[1-carboxy-3-(4-isothiocyanatophényl)propyl]-4,7,10-tris(acide acétique)-1,4,7,10-tétraazacyclododécane
PET	Photoinduced Electron Transfer
ppm	partie par million
PTA	pivaloyltrifluoroacétone
<i>r</i> _{DA}	distance donneur-accepteur
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
s	seconde
TE	transfert d'énergie
tfaa	trifluoroacétylacétone
THF	TétraHydroFurane
TOPO	oxyde de tri- <i>n</i> -octylphosphine
TR	transfert en retour
TR-FIA	Time Resolved FluoroImmunoAssay

ttfa	thénoltrifluoroacétylacétone
UV	ultra-violet

VII.2 Mesures des rendements quantiques des complexes TbL¹, EuL¹, SmL¹, DyL¹, EuL² et SmL² dans l'eau, à différentes longueurs d'onde d'excitation et par rapport à différentes références.

Chaque série de données dans les tableaux comporte la mesure du composé étudié (ligne en couleur) et celle de la référence (ligne en noir) dans les mêmes conditions de mesure de luminescence (une mesure se résume donc en deux lignes).

Chaque mesure indique le nom du spectre de luminescence du composé, la longueur d'onde d'excitation de la molécule, son absorbance à cette longueur d'onde, son rendement quantique relatif et son rendement quantique absolu.

EuL¹ par rapport à la rhodamine 101 et au violet de crésyle

Spectres d'absorption: eul50008.sp 1.10⁻⁵ M dans l'eau bidistillée
violet13.sp 1.10⁻⁶ M dans le méthanol
rhod008.sp 1.10⁻⁶ M dans l'éthanol

Spectre	A	E_{exc}/cm^{-1} (λ/nm)	$\Phi_{rel}/\%$	$\Phi_{abs}/\%$
Emeu5008	0.332	40323 (248)	2.9	2.9
Emrho014	0.033	40323 (248)	100	100
Emeu5008	0.332	40323 (248)	5.4	2.9
Emvcr23	0.026	40323 (248)	100	54
Emrho014	0.033	40323 (248)	100	100
Emvcr23	0.026	40323 (248)	55.0	55.0

VII. Annexes

Emeu5009	0.110	37313 (265)	2.8	2.8
Emrho015	0.045	37313 (265)	100	100
Emeu5009	0.110	37313 (265)	5.0	2.7
Emvici24	0.051	37313 (265)	100	54
Emrho015	0.045	37313 (265)	100	100
Emvici24	0.051	37313 (265)	56.4	56.4
Emeu5011	0.033	34722 (288)	4.9	4.9
Emrho017	0.025	34722 (288)	100	100
Emeu5011	0.033	34722 (288)	11.8	6.3
Emvici25	0.020	34722 (288)	100	54
Emrho017	0.025	34722 (288)	100	100
Emvici25	0.020	34722 (288)	41.9	41.9
Emeu5012	0.033	34722 (288)	5.5	5.5
Emrho018	0.025	34722 (288)	100	100
Emeu5012	0.033	34722 (288)	12.0	6.5
Emvici26	0.020	34722 (288)	100	54
Emrho018	0.025	34722 (288)	100	100
Emvici26	0.020	34722 (288)	45.8	45.8

EuL² par rapport à la Rhodamine 101 et au violet de crésyle.

Spectres d'absorption:

mesures à 248 nm

eul6020.sp $3 \cdot 10^{-6}$ M dans l'eau bidistillée

rhod009.sp $1 \cdot 10^{-6}$ M dans l'éthanol

violet14.sp $1 \cdot 10^{-6}$ M dans le méthanol

mesures à 265 et 288 nm (1^{ère} série de mesures)

uve60001.sp $2 \cdot 10^{-6}$ M dans l'eau bidistillée

violet13.sp $1 \cdot 10^{-6}$ M dans le méthanol

rhod008.sp $1 \cdot 10^{-6}$ M dans l'éthanol

mesures à 265 nm (2^e série de mesures)

eul6020.sp $3 \cdot 10^{-6}$ M dans l'eau bidistillée

rhod009.sp $1 \cdot 10^{-6}$ M dans l'éthanol

violet14.sp $1 \cdot 10^{-6}$ M dans le méthanol

mesures à 330 et 320 nm

uve60001.sp $2 \cdot 10^{-6}$ M dans l'eau bidistillée

violet11.sp $5 \cdot 10^{-6}$ M dans le méthanol

rhod007.sp $5 \cdot 10^{-6}$ M dans l'éthanol

Spectre	A	$E_{exc} / \text{cm}^{-1} (\lambda / \text{nm})$	$\Phi_{rel} / \%$	$\Phi_{abs} / \%$
Emeu6018	0.021	40323 (248)	12.8	12.8
Emrho028	0.031	40323 (248)	100	100
Emeu6018	0.021	40323 (248)	15.6	8.4
Emvicr28	0.017	40323 (248)	100	54
Emrho028	0.031	40323 (248)	100	100
Emvicr28	0.017	40323 (248)	47.0	47.0
E6cres03.sp	0.045	37736 (265)	18.9	18.9
Rhoda002.sp	0.045	37736 (265)	100	100
E6cres03.sp	0.045	37736 (265)	31.0	16.7
Cresy003.sp	0.051	37736 (265)	100	54
Rhoda002.sp	0.045	37736 (265)	100	100
Cresy003.sp	0.051	37736 (265)	60.8	60.8
E6cres04.sp	0.081	34722 (288)	23.2	23.2
Rhoda003.sp	0.025	34722 (288)	100	100
E6cres04.sp	0.081	34722 (288)	48.6	26.2
Cresy004.sp	0.020	34722 (288)	100	54
Rhoda003.sp	0.025	34722 (288)	100	100
Cresy004.sp	0.020	34722 (288)	48.4	48.4

VII. Annexes

SmL¹ par rapport à EuL¹.

Spectres d'absorption:

mesures à 248 nm

eul5013.sp $2 \cdot 10^{-6}$ M dans l'eau bidistillée

sml5003.sp $1 \cdot 10^{-5}$ M dans l'eau bidistillée

mesures à 265 et 288 nm (2^{ème} série de mesures)

eul5019.sp $1 \cdot 10^{-5}$ M dans l'eau bidistillée

sml5006.sp $1 \cdot 10^{-5}$ M dans l'eau bidistillée

mesures à 288 nm

eul5015.sp $1 \cdot 10^{-6}$ M dans l'eau bidistillée

sml5005.sp $1 \cdot 10^{-5}$ M dans l'eau bidistillée

Spectre	A	E_{exc}/cm^{-1} (λ/nm)	$\Phi_{rel}/\%$	$\Phi_{abs}/\%$
Emsm5005	0.652	40323 (248)	5.45	0.16
Emeu5016	0.067	40323 (248)	100	2.9
Emsm5011	0.20	37736 (265)	7.2	0.19
Emeu5024	0.116	37736 (265)	100	2.7
Emsm5008	0.061	34722 (288)	5.5	0.32
Emeu5020	0.005	34722 (288)	100	5.8
Emsm5013	0.060	34722 (288)	7.33	0.43
Emeu5026	0.036	34722 (288)	100	5.8

SmL² par rapport à EuL¹ et EuL².

Spectres d'absorption:

mesures par rapport à EuL¹

eul5015.sp $1 \cdot 10^{-6}$ M dans l'eau bidistillée

sml6003.sp $3 \cdot 10^{-6}$ M dans l'eau bidistillée
mesures par rapport à EuL^2

eul6021.sp $3 \cdot 10^{-7}$ M dans l'eau bidistillée

sml6001.sp $3 \cdot 10^{-6}$ M dans l'eau bidistillée

Spectre	A	$E_{exc} / \text{cm}^{-1} (\lambda / \text{nm})$	$\Phi_{rel} / \%$	$\Phi_{abs} / \%$
Emsm6002	0.041	40323 (248)	16.55	0.48
Emeu5019	0.065	40323 (248)	100	2.9
Emsm6004	0.050	37736 (265)	21.85	0.59
Emeu5022	0.008	37736 (265)	100	2.7
Emsm6003	0.143	34722 (288)	10.0	0.58
Emeu5021	0.005	34722 (288)	100	5.8
Emsm6016	0.090	34722 (288)	3.02	0.70
Emeu6016	0.014	34722 (288)	100	23.2

TbL¹ par rapport au sulfate de quinine.

Spectres d'absorption: rqt9h2o1.sp $5 \cdot 10^{-6}$ M dans l'eau bidistillée

qso4h2o1.sp $1.0 \cdot 10^{-6}$ M dans H_2SO_4 0.5 M.

Spectre	A	$E_{exc} / \text{cm}^{-1} (\lambda / \text{nm})$	$\Phi_{rel} / \%$	$\Phi_{abs} / \%$
T9h2oo11	0.12	42017 (238)	44.8	24.5
T9qh2o11	0.12	42017 (238)	100	54.6
Pt9h2o1	0.21	38760 (258)	41	22.6
Pqt9h2o1	0.21	38760 (258)	100	54.6

VII. Annexes

DyL¹ par rapport au sulfate de quinine et au 9,10-diphénylanthracène.

Spectres d'absorption: dyl5005.sp $5 \cdot 10^{-6}$ M dans l'eau bidistillée
 qso4004.sp $0,5 \cdot 10^{-6}$ M dans H₂SO₄ 0.5 M
 diph006.sp $3 \cdot 10^{-7}$ M dans l'hexane
 diph007.sp $3 \cdot 10^{-8}$ M dans l'hexane

Spectre	A	E_{exc}/cm^{-1} (λ/nm)	$\Phi_{rel}/\%$	$\Phi_{abs}/\%$
Emdy5007	0.302	40323 (238)	0.15	0.08
Emqs007	0.035	40323 (238)	100	54.6
Emdy5007	0.302	40323 (238)	0.078	0.07
Emdi007	0.012	40323 (238)	100	90
Emqs007	0.035	40323 (238)	49.1	44.2
Emdi007	0.012	40323 (238)	100	90
Emdy5008	0.232	38461 (258)	0.11	0.06
Emqs008	0.016	38461 (258)	100	54.6
Emdy5008	0.232	38461 (258)	0.067	0.06
Emdi008	0.005	38461 (258)	100	90
Emqs008	0.016	38461 (258)	58.1	52.2
Emdi008	0.005	38461 (258)	100	90

DyL¹ par rapport au **TbL¹**.

Spectres d'absorption: dyl5005.sp ($C = 5 \cdot 10^{-6}$ M) dans l'eau bidistillée
 tbl5008.sp ($C = 1,4 \cdot 10^{-6}$ M) dans l'eau bidistillée.

Spectre	A	E_{exc}/cm^{-1} (λ/nm)	$\Phi_{rel}/\%$	$\Phi_{abs}/\%$
Emdy5010	0.302	40323 (238)	0.20	0.047

Emtb5014	0.142	40323 (238)	100	24
Emdy5011	0.232	38461 (258)	0.30	0.07
Emtb5015	0.084	38461 (258)	100	23

TbL² par rapport au sulfate de quinine

Spectres d'absorption: t10rqh25.sp $5 \cdot 10^{-6}$ M dans l'eau bidistillée

qso4t104.sp $0,5 \cdot 10^{-6}$ M dans H₂SO₄ 0.5 M dans l'eau.

Spectre	A	$E_{exc} / \text{cm}^{-1} (\lambda / \text{nm})$	$\Phi_{rel} / \%$	$\Phi_{abs} / \%$
Rqh2t101	0.098	34720 (288)	2.0	1.1
Qso4t101	0.015	34720 (288)	100	54.6

VII.3 Spectres d'absorption et d'émission des systèmes $\text{EuL}^2 - \text{Cy5}$ et $\text{EuL}^3 - \text{Cy5}$ en fonction du pH

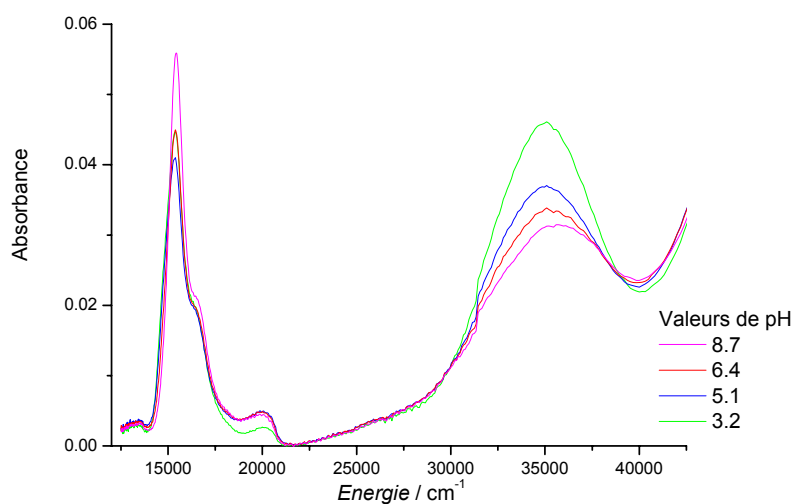


Figure 7.1 : variations de l'absorbance de EuL^2 , en présence de 0.3 équivalents de Cy5, en fonction du pH.

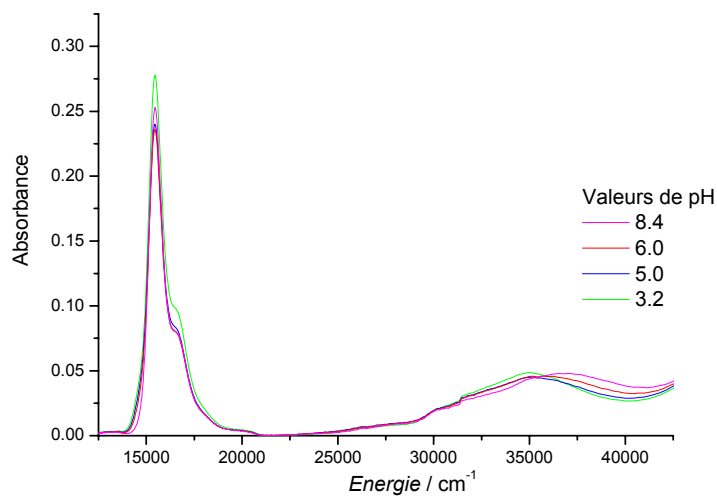


Figure 7.2 : variations de l'absorbance de EuL^2 , en présence de 1.2 équivalents de Cy5, en fonction du pH.

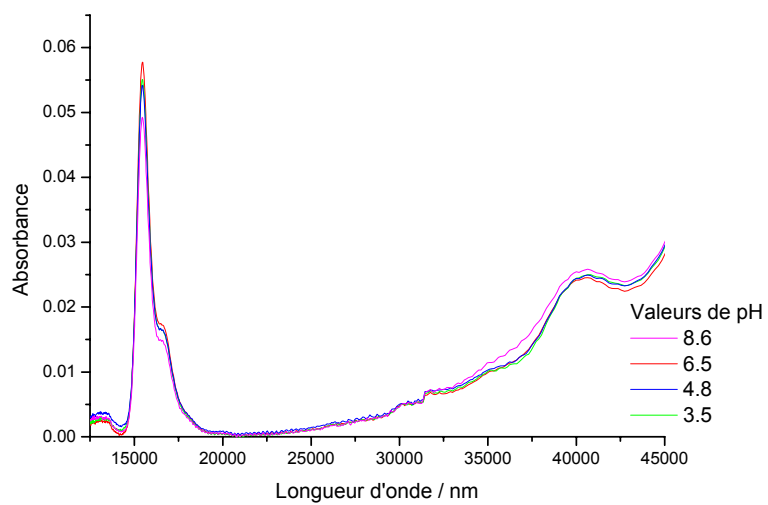


Figure 7.3 : variations de l'absorbance de EuL^3 , en présence de 0.4 équivalents de Cy5, en fonction du pH.

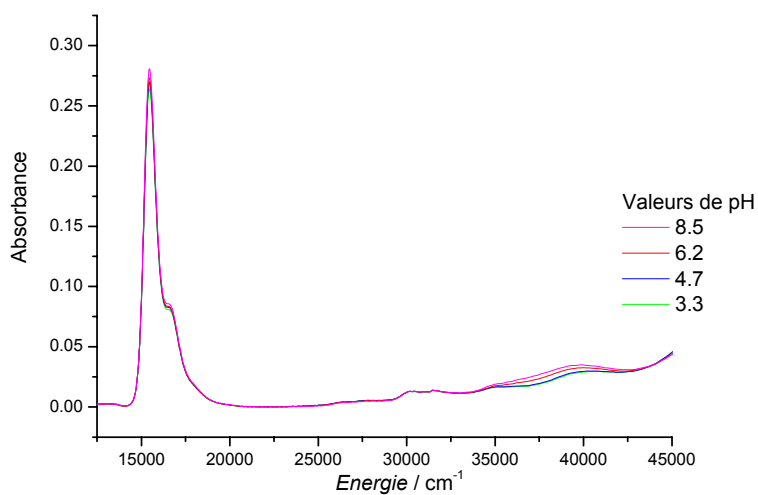


Figure 7.4 : variations de l'absorbance de EuL^3 , en présence de 1.6 équivalents de Cy5, en fonction du pH.

VII. Annexes

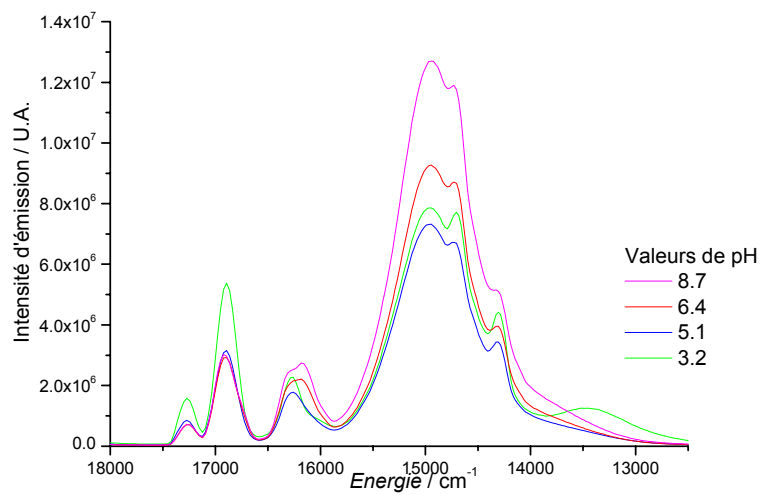


Figure 7.5 : variations de l'émission de EuL^2 , en présence de 0.3 équivalents de Cy5, en fonction du pH.

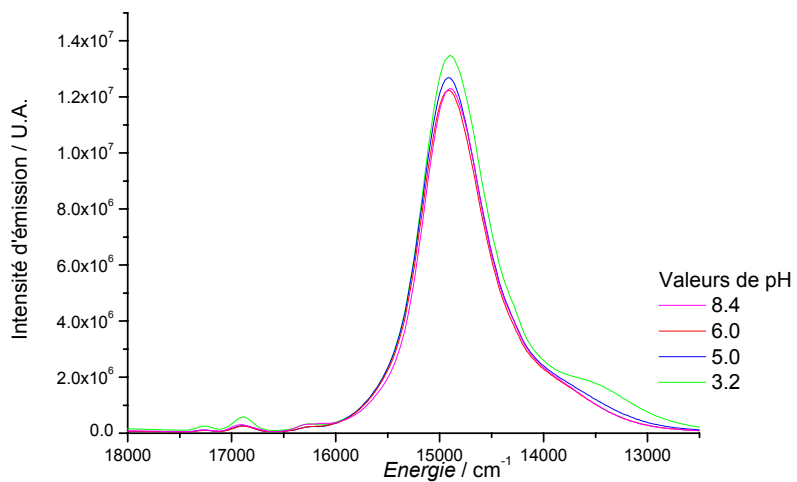


Figure 7.6 : variations de l'émission de EuL^2 , en présence de 1.2 équivalents de Cy5, en fonction du pH.

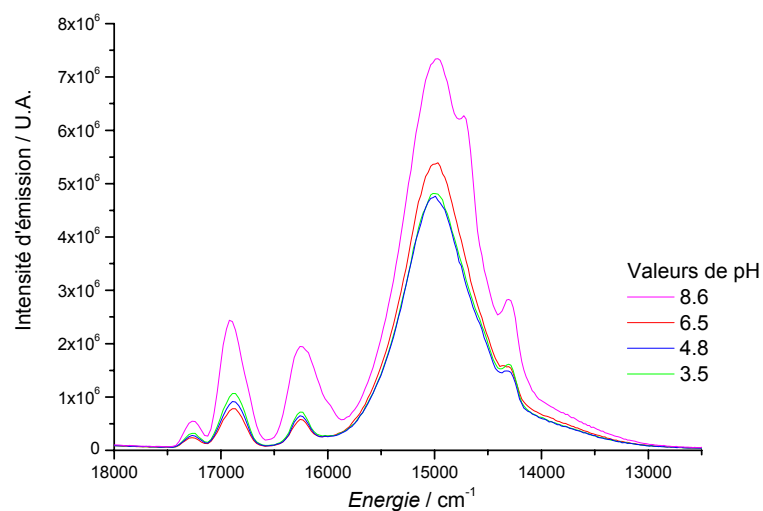


Figure 7.7 : variations de l'émission de EuL^3 , en présence de 0.4 équivalents de Cy5, en fonction du pH.

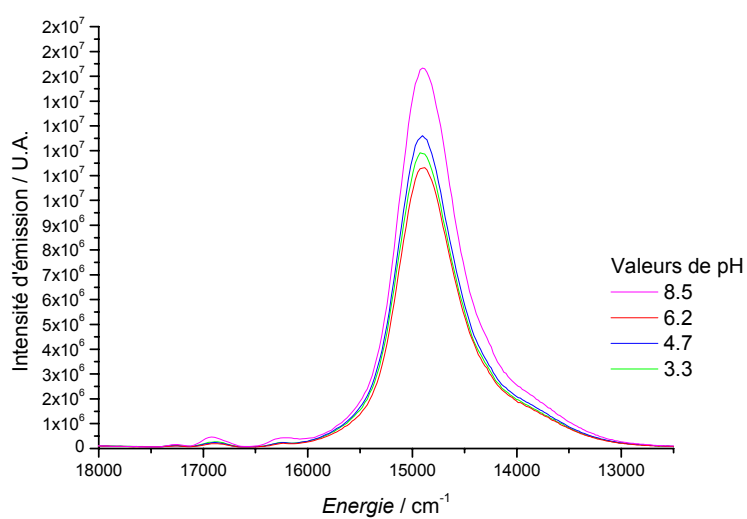


Figure 7.8 : variations de l'émission de EuL^3 , en présence de 1.6 équivalents de Cy5, en fonction du pH.

VIII Curriculum Vitae

Anne-Claire FERRAND

5, rue de la Touvière
74500 Evian-Les-Bains

+ 41 21 693 98 22 (prof.)
06 76 84 85 92 (privé)
anne-claire.ferrand@epfl.ch

27 ans
Célibataire



FORMATION

- Oct. 2004* **Doctorat en Chimie** - Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (Suisse)
- Juin 1999* **DEA en Chimie Inorganique** – Mention AB - Université de Lyon II (Rhône)
- Juin 1998* **Maîtrise de Chimie** - Université de Tours (Indre-et-Loire)
- Juin 1996* **DEUG Sciences de la Matière** - Université de Tours (Indre-et-Loire)

EXPERIENCES PROFESSIONNELLES

- Oct. 1999* **Doctorat en Chimie**
à **Laboratoire de Chimie Supramoléculaire des Lanthanides – Prof. J.-C. G. Bünzli**
Août 2004 **Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (Suisse)**
Elaboration et étude de nouveaux complexes de lanthanides luminescents :
 - synthèse de ligands macrocycliques (dérivés du cyclène) et de complexes de lanthanides
 - caractérisations physico-chimiques (RMN ^1H et ^{13}C , IR, UV-VIS, ES-MS, MALDI-TOF)
 - études de stabilité en solution (titrages par potentiométrie, UV-VIS et RMN ^1H) et des propriétés photophysiques (mesures laser) en solution et à l'état solide**Enseignement de travaux pratiques et de travaux dirigés (800 heures)**
Chimie générale pour étudiants en 1^{ère} année de médecine et biologie à l'Université de Lausanne ; Spectrophotométrie UV-VIS pour étudiants en 3^{ème} année de chimie à l'EPFL
- Oct. 1998* **Stage de DEA en Chimie Inorganique**
à **Laboratoire de Chimie Organo-Métallique de Surface – Prof. J.-M. Basset**
Août 1999 **Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique de Lyon (Rhône)**
Synthèse organo-métallique d'un catalyseur à base de tungstène, caractérisations (RMN ^1H et ^{13}C , IR) et tests catalytiques pour l'hydrogénation d'oléfines (GC-MS)

Avril-Mai **Stage de Maîtrise de Chimie**
1998 **Laboratoire R&D - Stéarinerie Dubois, Le Blanc (Indre)**
Synthèse et caractérisation (GC-MS) d'esters d'acides gras

Juillet-Août **Stage d'été**
1996 **Laboratoire analytique - W.R. Grace Ltd, St Neots (Angleterre)**
Techniques d'analyses de polymères (dosages volumétriques, IR, points de fusion)

COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES

Article scientifique

G. Zucchi, A.-C. Ferrand, R. Scopelliti, J.-C. G. Bünzli, *Inorganic Chemistry* (41) 2002, 2459-2465. "Highly luminescent, visible-emitting lanthanide macrocyclic chelates stable in water and derived from the cyclen framework"

Posters et Congrès

- Oct. 2003* "Asymmetrical cyclen derivatives for biological applications: highly luminescent lanthanide chelates"
Assemblée d'automne de la Société Suisse de Chimie, Lausanne (Suisse)
- Août 2003* "Highly luminescent lanthanide chelates based on the cyclen framework: derivatization for biological applications"
Fifth International Conference on f-element ICfe'5, Genève (Suisse)
- Sept. 2002* "Highly luminescent lanthanide chelates based on the cyclen framework; derivatization for biological applications"
Cours de 3^{ème} cycle « Molecular Devices », Champéry (Suisse)
- Oct. 2001* "Highly luminescent lanthanide chelates based on the cyclen framework using phenacyle moieties"
Assemblée d'automne de la Société Suisse de Chimie, Zürich (Suisse)
- Oct. 2002* Third Swiss COST chemistry symposium, Bâle (Suisse)
- Sept. 2001* Cours de 3^{ème} cycle « C-H bond activation », Champéry (Suisse)
- Oct. 2000* Assemblée d'automne de la Société Suisse de Chimie, Lausanne (Suisse)
- Sept. 2000* Fourth International Conference on f-element ICfe'4, Madrid (Espagne)
- Sept. 2000* Cours de 3^{ème} cycle « Metal ions in biological systems », Champéry (Suisse)
- Déc. 1999* 12èmes entretiens Jacques Cartier « Procédés propres et environnement : la solution catalytique », Lyon (Rhône)

COMPETENCES INFORMATIQUES ET LINGUISTIQUES

Informatique

Maîtrise de l'outil informatique PC, Windows (XP): Word, EndNote, PowerPoint, Excel

Schéma moléculaires et simulations: Chemdraw, Chemwindow, ORTEP, CAChe

Mesures et calculs: WinNMR, UVWinLab, TiNet, Origin, Hyss, Hyperquad, Specfit

Bibliographie : SciFinder, MDL CrossFire Commander (Beilstein), ISIS Base

Langues

Anglais: très bon niveau

Espagnol: bon niveau - Allemand, Italien : notions

ACTIVITES

Sport : judo (ceinture noire), ski, handball, tennis, randonnée

Voyages, musique, jardinage